د. عبد الحسين الفيصل

الخليّة

التركيب الدّقيق والوظائف



الخلية: التركيب الدقيق والوظائف



الأهليّة للنشر والتوزيع

المملكة الأردنيّة الهاشميّة ، عمّان
وسط البلد ، خلف مطعم القدس
هاتف ٤٦٣٨٦٨٨ ، فاكس ٤٦٥٧٤٤٥
ص. ب : ٧٧٧٢ عمّان / الأردن

الخليّة :
التركيب الدقيق والوظائف
د. عبد الحسين الفيصل / العراق

الطبعة العربيّة الأولى ، ٢٠٠٠

تصميم الغلاف : **زهير أبو شايب / الأردن**

الصفّ الضوئي :
ياقوت ، عمّان ، هاتف ٤٦٤١١٨٣

طبع في لبنان

د. عبد الحسين الفيصل

الخليّة:
التركيب الدّقيق والوظائف



بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ هُوَ الَّذي خَلَقَ لَكمُ مّا في الأرضِ جَميعاً ثُمّ أستَوَى إلى السّمَاء فَسَوّاهُنّ سبعَ سَمَوات وهُوَ بِكُلِ شئٍ عَلِيمٌ . ﴾

(صدق الله العظيم)

اهــــداء

الى منْ هَدهَدتنْي فيّ بَردٍ وَ قَيضْ

وغنَـتْ لـيَ فيّ حُـزْنٍ وفُـيـضْ

دلْلْ لُولْ ... *

دلْلْ لُولْ ...

عَدوكْ عَليلْ

وسَاكنْ «الچّولْ» **

الى أمي أمد الله في عمرها

* دلْلْ لُولْ :ترنيمة تغنيها الامهات للاطفال عند موعد النوم وتعني التدلل .

** الچّولْ :في العامية العراقية الارض الخلاء الفارغة من الشجر والبيوت ولا يعيش فيها سوى الهوام .

محتويات الكتاب

الصفحة

الصفحة

الصفحة

الصفحة

الصفحة

الصفحة

الصفحة

مقدمة الكتاب

يعتبر علم الخلية اللبنة الاولى والاساسية التي أستندت عليها جميع فروع العلوم الحياتية ويرجع الفضل في ظهور هذا العلم الى اختراع المجهر الذي ساهم كثيراً في سبر أغوار تفاصيل مثيره عن الحياة لم تكن معروفة سابقاً . ونتيجة لمعرفتنا للخلية وتفاصيلها تطورت الكثير من مفاهيمنا عن الحياة وندرك اليوم بأن ما يقوم به كائن معقد وجبار كالأنسان من وظائف حياتية تقوم به أيضاً خلية بسيطة متواضعة لا ترى بالعين المجردة . أن معظم التفاصيل الدقيقة الخاصة بالخلايا تم التعرف عليها بأستخدام المجهر الالكتروني الذي يعمل على تكبير الاشياء عشرات الالوف من المرات . ونظراً لغلاء ثمنه وأحتياجه الى مختبرات خاصه فأن هناك أعداد قليله منه في العالم وتخلو دول كثيره من مثل هذا الجهاز العظيم الفائدة ، لذلك فأن الحصول على الصور اللازمة لمؤلفات علم الخلية تصبح في غاية الصعوبه وخصوصاً في بلداننا لعدم توفر هذا الجهاز ولعدم وجود مركز خاص لبيع الصور الدقيقة اللازمة لتوضيح التفاصيل الخلوية مما يدفع للأعتماد شبه الكلي على الصور المنشورة في المصادر العلميه الاجنبيه التي تنشر في البلدان الاكثر تقدماً وغناً .

لقد اعتمد هذا الكتاب في توضيح التفاصيل التي تم شرحها فيه على عدد من الصور المنشورة في بعض المراجع الاجنبية والعربية وتوخينا في هذا الكتاب أستعراض التفاصيل الدقيقة لتركيب الخلية ومجريات الحياة فيها مستفيدين من الخبرة التي اكتسبناها في البحث العلمي والتدريس الاكاديمي الجامعي لسنوات عديدة .

ونرجو أننا استطعنا تقديم هذا العلم من خلال هذا الكتاب بطريقة تساهم في فهم وأستيعاب مفهوم الحياة وطبيعتها وليتناسب مع الطلبة الجامعيين في أقسام

علوم الحياة والعلوم الطبية المسانده والزراعة وزودناه في سبيل هذا الهدف بالعديد من الرسوم التخطيطية الى جانب الصور الفوتغرافية .

وختاماً . .

أتقدم بوافر الشكر لدار الاهليه للنشر والتوزيع على تبنيها نشر الكتاب وتوزيعه ونشكر الله عز وجل على عونه لنا في سبيل أنجاز هذا الكتاب ونسأله النجاح والتوفيق في عملنا أنه السميع المجيب .

د . عبد الحسين مويت الفيصل

عمـــــان ـ الاردن

٢٢ / ٤ / ١٩٩٩

الفصل الاول

المفهوم العام لعلم الخلية وتطوره

Cytology Concept and Development

مقـــدمة :

تعتبر الخلية هي الوحدة التركيبيه والوظيفية في الانظمة الحية .وقد تم البحث عن ماهية الخلايا وتركيبها منذ مدة طويلة حتى نشأ فرع علم الخلية Cytology .

يعود الفضل في نشوء هذا العلم الى عدد من فروع المعرفة الاخرى وعلى الاخص علوم الكيمياء والفيزياء البصرية والفسلجة والاجنة والتشريح وغيرها .

وآدى ذلك الى وجود علاقات وطيده لهذا الفرع مع هذه العلوم وعلوم أخرى حتى أصبح اليوم أحد أعمدة البايولوجيا الجزيئية التي ظهرت حديثاً والتي ساهم علم الخلية كثيراً في ظهوره كفرع من فروع علوم الحياة .

كما أن لعلم الخلية علاقة وثيقة جداً بعلم الوراثة وعلم الفسلجة ذلك أن الاول يهتم بالآليات وما اليها من أنزيمات التي لها علاقة في أنقسام الخلايا وكيفية أنتقال المواد الوراثية الى الاجيال الجديده من الخلايا فيما يهتم العلم الثاني بالفعاليات الحيوية التي تتم داخل الخلايا ويوضح من خلالها الاهميه الوظيفية لأجزاء الخلية والآليات التي تتم لقيام الخلايا بالتغذية والتكاثر والنمو وغيرها .

ولا يزال يعتبر علم الخلية الركن الرئيسي في أبحاث السرطان ومحاولة معرفة الاسباب التي تعمل على تحويل الخلايا الطبيعية الى خلايا سرطانية واكتشاف اليات التسرطن وربما العلاج .

لذلك فان لهذا العلم أهمية كبيره في نواحي الحياة الطبيعية والصناعية والزراعية .

نبذة تأريخية عن ظهور علم الخلية :

يعتبر علم الخلية من الفروع الاصيلة في علوم الحياة وظهر كفرع مميز ومستقل في نهاية القرن التاسع عشر .ويعود الفضل في ظهوره كعلم الى اكتشاف العدسات وتطويرها لبناء المجاهر المختلفة .

أستخدم مصطلح خلية Cell أول مرة من قبل روبرت هوك عندما وصف التركيبات المضلعة التي تشكل نسيج الفلين عام 1665 ميلادية بأستخدام عدسات مكبره قام بصنعها بنفسه .

لم يستطع هوك رؤية خلايا حية بل أن ما رآه هو حجيرات مضلعه محاطه بجدران سميكة . وقد أعيد وصف الملاحظات السابقه التي وضعها هوك من قبل جرو ومالبيجي بعد عدة سنوات عندما فحصوا خلايا نباتية مختلفة وقد وجدو بأن ما تم وصفه سابقاً لم يكن سوى الفرغ المحاط بالسليلوز لخلايا نباتية وأطلقوا على هذه الفراغات بالحويصلات Vesicles أو Utricles .وخلال نفس القرن قام ليفنهوك (1674) بفحص قطرات من الماء أضافة لخلايا دموية ووجد بأن الفرغ الذي تم وصفه سابقاً لصورة الخلايا غير مطابق للحقيقه حيث وصف خلايا حره تحتوي بداخلها على عدد من الاجسام المختلفة .

وخلال قرن من ذلك الزمان تقدمت المعلومات حول الخلية كثيراً . ففي عام 1839 وضعت نظرية الخلية التي نصت على أن جميع الكائنات الحية مؤلفة من خلايا ومنتجاتها وذلك من قبل عالم النبات شلايدن Schleiden وشوان Schwann عالم الحيوان . أستندت نظرية الخلية الى العديد من الملاحظات العلميه التي وردت قبل ذلك من ضمنها ملاحظات العلماء ميربل Mirbel, 1802 وأوكين Oken , 1805 ولا مارك Lamrk,1809 ودتروشت Dutrochet,1824 وتوربن Turpin,1826 وبروان Brown,1831 وغيرهم .

كان لنظرية الخلية تأثير واسع على عدد كبير من فروع المعرفة الحياتية حيث

تضمنت هذه النظرية أن كل خلية تنشأ من أنقسام خلية سابقة لها . لقد دفعت الحقائق التي تضمنتها نظرية الخلية العلماء لتكثيف دراساتهم وأبحاثهم . ففي عام 1846 قام الباحثون دورجاردن وشولتز وبركنجي وفوت مول Von Mohl , Dujardin , Schulteze , Purkinji بوصف احد مكونات الخليه وسمي بالبروتوبلازم وهو الجزء الذي يحيط بالنواة التي وصفها براون عام 1831 .

في عام 1855 قام عالم الانسجه المرضيه فيرشو Virchow وعالم الاجنة Kolliker بتوضيح أن الكائن يتطور من التحام خليتين هما الحيوان المنوي والبويضة من خلال عملية سميت بالأخصاب .

وخلال الفترة الممتده من 1855 حتى 1875 تمكن ريماك Remak وفلمنك Flemming وسترسبورغ Strasburger من وصف الانقسام المباشر Amitosis في الحيوان والنبات .وخلال سنتين بعد ذلك قام شيلشر [1878] Schleicher وفلمنك [1880] بوصف الانقسام غير المباشر Mitosis أو Karyokinesis . وفي عام 1890 وصف ولدور Waldeyer الكروموسومات وشرح أهميتها في الانقسام وتوزيعها فيه بشكل متساوي على الخلايا الناتجه عنه . ثم تلى ذلك اكتشاف الاشعة المغزليه من قبل فان بندن Van Benden وبوفيري Boveri والمايتوكوندريا من قبل التمان Altmann وبنداBendal عام 1890 .

حتى هذا التاريخ كان هناك فيض من المعلومات المتناثرة عن الخلية وأهميتها وكانت هناك حاجه ماسه لأبرازها جميعاً وهكذا كان . اذ قام هيرتوج Hertwig عام 1892 بنشر مقالة علمية موسعة في مجلة « الخلية والانسجة » الالمانية تحدث خلالها عن البناء العام لبعض المظاهر الحياتية أستند فيها الى خصائص وصفات الخليه وتركيبها ووظائفها . وكانت هذه المقاله بحق اعلان واضح لعلم الخلية كفرع مستقل عن الفروع الاخرى لعلوم الحياة .

وبظهور علم الخليه بشكل واضح ومع تطور الادوات والاجهزه وطرق البحث تمكن العلماء من وصف العديد من مظاهر الحياة داخل الخلية . ففي عام 1895 قام

أوفـرتون Overton بوصف الغشاء البلازمي للخلايا ووضع تصورا بدائيا عن تركيبه المفترض . كما اكتشفت أجسام كولجي عام 1898 ووضعت عدة تصاميم مفترضة للغشاء البلازمي اعتماداً على التحليل الكيميائي لهذا الغشاء من قبل كولتدر وبارلوند عام 1933 وجورتنر وجريندل عام 1925 ودانيللي وهار في عام 1935 . وفي عـام 1943 عزلت العضيات السايتوبلازمية بأستخدام الطرد المركزي وقدم المجهر الالكتروني الكثير من العون في التعرف ووصف تركيب الكثير من الاجزاء الخلويه . وأعتبر قدوم المجهر الالكتروني ثوره في المعلومات الجزيئيه عن الخلايا وعن دورها في الانسجة والاعضاء واكتشاف الكثير من الوظائف الخلويه التي تقوم بها .

ومن خلال العمل الدؤوب لعدد كبير من علماء وباحثي العالم أصبح معروفاً لدينا الان كيف تنقسم الخلايا وتوفرت لدينا جميع التفاصيل التي يتم خلالها توزيع الكروموسومات وانفصال أزواجها كما توفرت المعلومات الكامله عن الانقسام الاختزالي الذي يحصل للخلايا الجنسية . كما تمكن علماء الكيمياء من عزل المكونات الكيمياء لمعظم أجزاء الخلية ودرست بشكل واسع ومتطور .

كما قدمت المعلومات التي وفروها من خلال هذه الابحاث العون الكبير في معرفة آليات ألايض في العديد من أجزاء الخليه كوظائف الاغشيه الخلويه والمايتوكندريا والبلاستيدات والاجسام الحاله وغيرها . وكذلك توفرت لدينا معرفه شبه كامله عن دور الانزيمات في أيض الخليه وبناء البروتينات وتضاعف المادة الوراثيه DNA وغير ذلك الكثير .

أشكال وأحجام الخلايا :

يختلف حجم وشكل الخلايا في الاحياء كثيراً . ويصل الاختلاف الى أعمقه عندما نجد أن هناك الالاف من أشكال وأنواع واحجام الخلايا في الكائن الواحد الناشئ أصلاً من خلية واحده .

ويبدو بأن هذا الاختلاف في حجم وشكل الخلايا يعود لاسباب مهمه مثل الوظيفه والعمر وموقع الخلايا وتطورها الجنيني . بشكل عام يتراوح حجم الخلايا ما بين 10 الى 1000 مايكروميتر ويزيد عن ذلك كثيراً في بيوض الطيور وغيرها .

تعتبر الوظيفه ذات أهمية كبيره في تحديد حجم وشكل الخليه وقد وجد بأن الخلايا المتشابهه وظيفيا لها نفس الحجم ولكنها تختلف في الشكل .فالخلايا الجلديه السطحيه تكون مسطحه لتخدم الخليه في أداء وظيفتها في حماية الاجزاء الداخلية ويزداد تبعاً لذلك مساحتها السطحيه على حساب الحجم العميق لها . كما تتميز الخلايا الكأسيه في بطانه الامعاء الدقيقه وبطانه القصبه الهوائيه بشكلها الخاص وحجمها الخاص الذي يساعدها على افراز المواد المخاطيه لتسهيل الانزلاق وترطيب الاجزاء الموجوده فيها اضافة للمساعده في تخمر بعض المواد .

أما كريات الدم الحمراء فتتميز بشكلها القرصي او البيضوي الخاص الذي يساعدها في المرور حتى عبر الاوعيه الدمويه الضيقه جداً والتي يصبح قطرها حتى أقل من قطر كريات الدم نفسها . لقد وجدت الدراسات الكيميائية لكريات الدم الحمراء بأن وجودها في هذا الشكل والحجم يساهم كثيراً في زيادة كفاءة نقل الغازات بحيث يساعدها شكلها الخاص وحجمها على نقل أكبر ما يمكن نقله من الغازات ويعود ذلك في طبيعة الحال الى التنظيم الخاص لبروتين الهيموغلوبين اذ ان حصول ضرر أو تلف في الهيموغلوبين يؤدي الى تغيير في شكل الخلايا وحجمها . فالخلايا الدمويه المنجليه الناشئه عن تشوه في الهيموغلوبين بسبب الطفرات الوراثيه تفقد الشكل والحجم الطبيعي وتفقد تبعاً لذلك الكثير من

كفاءتها في نقل الغازات .

كما تظهر الخلايا العصبيه أشكالا وحجوما خاصة تساهم كثيراً في أداءها لوظيفة نقل الرسائل العصبيه . فالخلايا العصبيه تتميز بسعة حجمها ووجود زوائد كثيره بارزه من جسم الخليه اضافة لوجود نتوء بارز طويل يرتبط مع خلايا عصبيه أخرى تقع بعيدا في موقع آخر . فالخلية العصبيه بهذا الشكل والحجم تستطيع نقل الالاف من الرسائل العصبيه وتستطيع من خلال زوائدها الشجريه أن ترتبط مع الالاف من محاور الخلايا العصبيه الاخرى .

كما تستطيع أيضا من خلال محورها نقل هذه جميعا الى خلية أخرى في نفس الموقع أو بعيداً عنه . ولو تصورنا عدم وجود الزوائد الشجريه في الخليه العصبية وبدلاً من ذلك توجد زائده واحده فقط فأن هذه الخليه لا تستطيع الاتصال سوى مع خليه واحدة فقط ويمكن تصور التغيير الكبير الذي سيحصل في ورود الرسائل العصبيه وسرعتها .

ولا يقتصر الشكل النجمي على الخلايا العصبيه بل يمكن مشاهدته في الخلايا العظميه والخلايا الصبغية . ونظراً لوجود الخلايا العظمية في بيئة صلبه لذلك فأنها طورت نفسها لتستطيع تبادل المواد الغذائية مع الخلايا المحيطه وتبعاً لنظام التفرعات الذي تتزود به الخلايا العظميه فأن المواد الغذائيه والغازات والفضلات تنتقل وتتحرك من مواقع العظم المختلفه عبر قنيات الخلايا العظمية .

كما تعتبر الخلايا الخازنة مثل الخلايا الدهنية والبيوض من اكبر الخلايا حجما ويعود ذلك لوجود الكثير من المواد الغذائيه المخزنه في هذه الخلايا .

كما يتغير شكل وحجم بعض الخلايا بسبب الوظيفة أيضاً فالخلايا المبطنه للمثانه على سبيل المثال ذات شكل وحجم متغير تبعاً لوجود البول في المثانه . اذ تنضغط خلايا النسيج الانتقالي عند امتلاء المثانه بالبول وتتحول هذه الخلايا الى خلايا صغيره الحجم منضغطه لا تلبث أن تتمدد بأشكال وأحجام مختلفه عن

فراغ المثانه وقد يصل حجمها في حاله التمدد الى اكثر من ثلاثة أمثال حجمها في حالة الانضغاط . كما تتغير أشكال وأحجام خلايا مختلفة أخرى كما هو الحال في بعض الخلايا الدمويه البيضاء والتي تتحرك بنفس الطريقة التي تتحرك فيها الاميبا حيث يتغير شكل الخلايا هذه وحجمها بتغير توزيع السايتوبلازم وحركته داخل الخلايا .

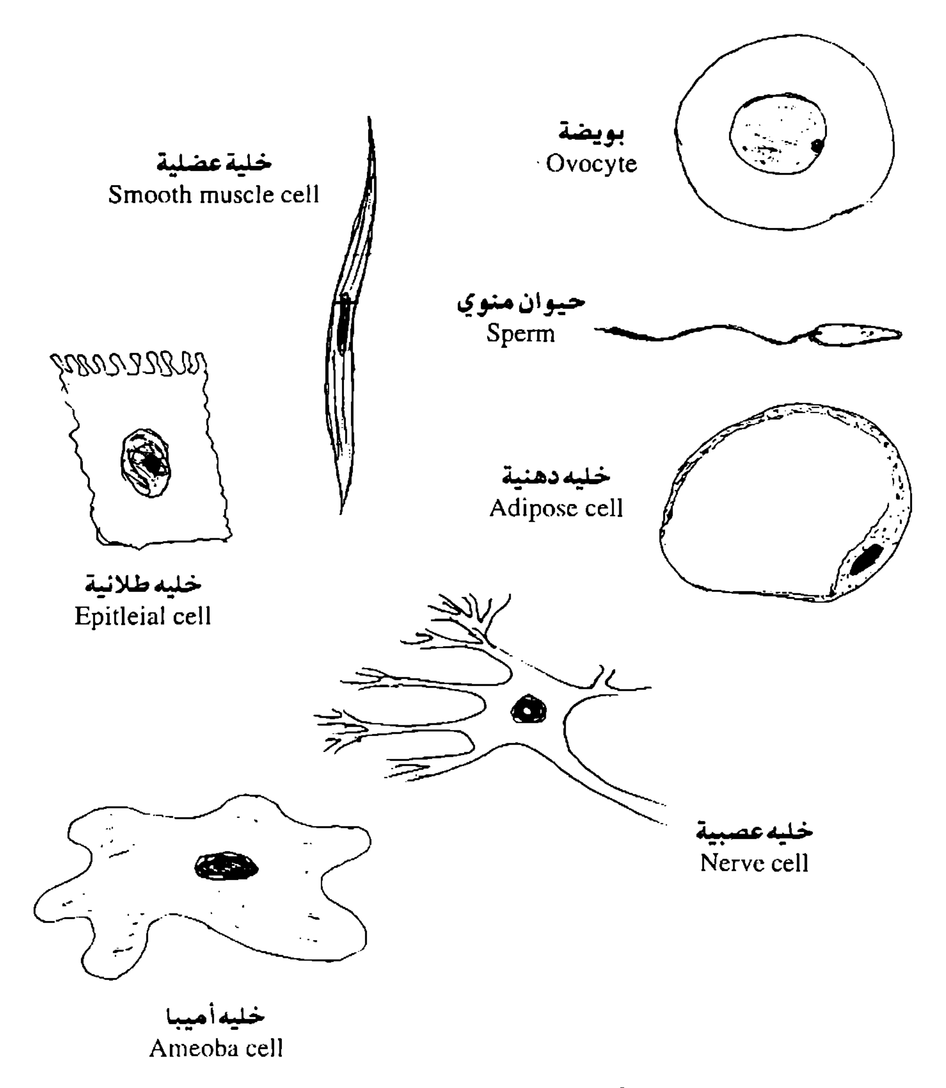
وهكذا فأن الشكل المغزلي للعضلات الملساء والشكل الاسطواني للعضلات الهيكلية والقلبيه والمغزلي المذيل للحيوانات المنويه والخلايا المهدبة في بطانه القصبه الهوائيه والامعاء وقنوات المبايض وغيرها من أشكال الخلايا تخدم وظيفة هذه الخلايا (أشكال 1-1 و2 و3 و4) . وقد لاحظنا مما سبق أن بعض الخلايا تتكيف بأشكال متباينه خدمة للوظيفة كما هو الحال في خليه الاميبا وخلايا الدم البيضاء بينما تبقى خلايا أخرى على شكلها العام ولا تتغير بسبب ثبات وظيقتها كما هو الحال في الخلايا العصبيه والخلايا العضليه وغيرها .

وعلى الرغم من أن عامل الوظيفة ذو أهميه بالغة في تحديد حجم وشكل الخلايا الا ان هناك عوامل أخرى تلعب دوراً اضافياً في ذلك . فالخلايا الجنينية تكون صغيرة الحجم وكذلك الحال في الخلايا الناتجه عن الانقسامات الخلويه المختلفة مقارنة مع حجومها في مرحلة البلوغ ويبدو بأن هناك علاقة مابين حجم السايتوبلازم في الخلايا والحجم السطحي لها وتظهر هذه العلاقه واضحه في المثال السابق ، فالخلايا المنقسمه تتقاسم سايتو بلازمها مع الخلايا الجديده وهكذا تحصل هذه الخلايا على كميه قليلة من السايتوبلازم يساعدها على إتمام نموها ثم زيادته ويتبع ذلك زيادة في حجمها .

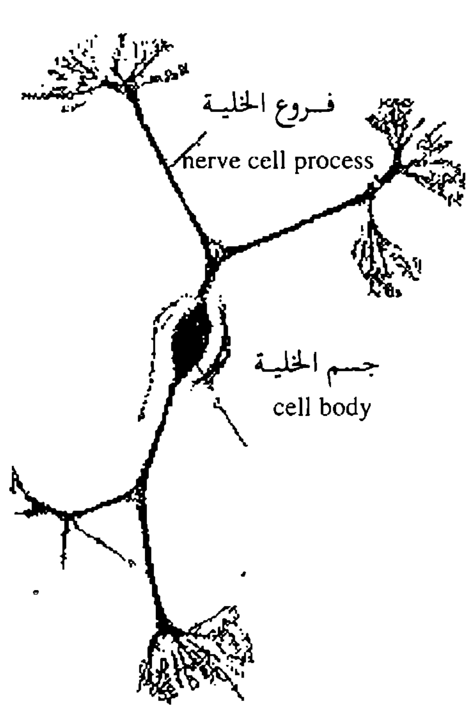
ولا يبدو ذلك قاعدة عامه ففي الانقسامات الجنينية هناك أنظمة مختلفة للتفلج ترتبط مع نوع البويضه المخصبه وتبعاً لتوزع موادها الغذائيه في السايتوبلازم . فالانفلاقات الجنينيه في البيوض المتجانسه المح كما هو الحال في بويضات الانسان تكون متجانسة وينتج عنها خلايا صغيرة متساوية الحجم بينما تتفلج بيوض الطيور

قطبيه الغذاء بطريقه مختلفه حيث ينتج القطب الحيواني من البويضه المخصبه خلايا صغيره الحجم منضغطه مقارنه بخلايا كبيره الحجم قليله العدد في القطب الخضري .

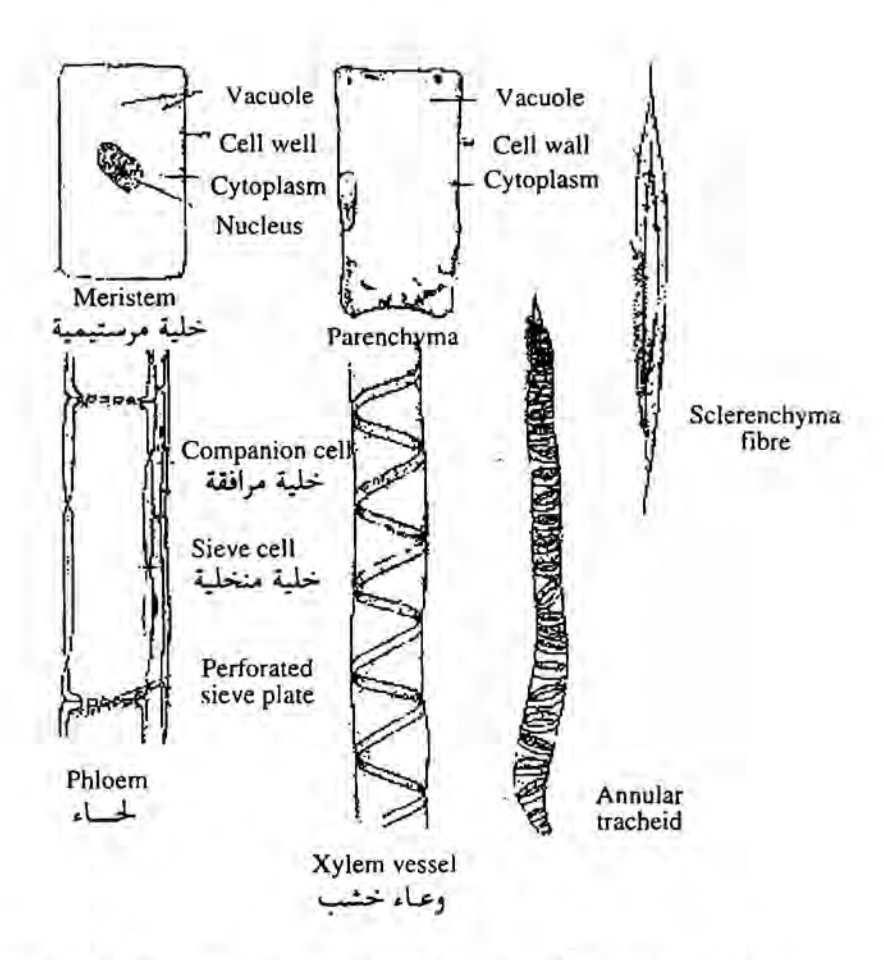
كما أن خلايا طبقه مالبيجي في بشرة الجلد تنتج خلايا مضلعة أو مستطيلة لا تلبث هذه أن تتفلطح وتصبح أكثر اتساعاً كلما تقدمت نحو طبقات البشره العلوية .



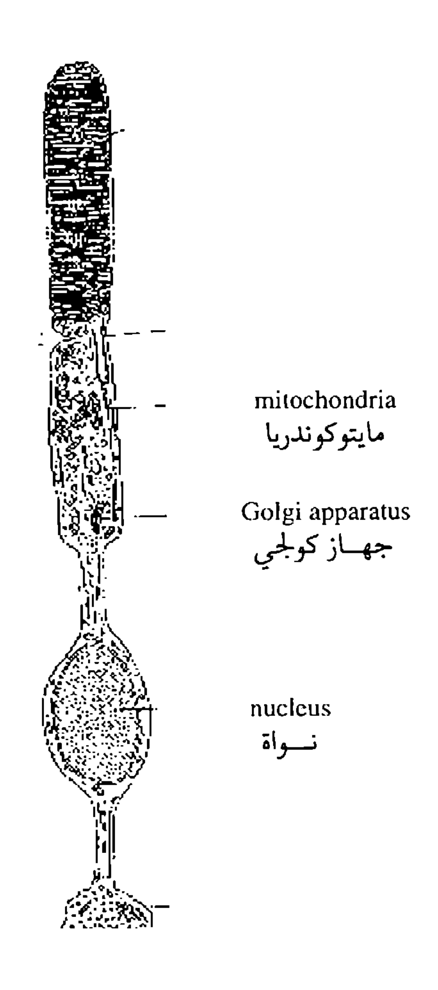
شكل 1 -1 : أشكال متنوعة من الخلايا الحيوانية .



شكل 1 - 2 : صوره بالجهر الالكتروني لخليه عصبيه . لاحظ الشكل النجمي لجسم الخليه والنهايات المتفرعه .



شكل 1 - 3 : أنواع مختلفة الشكل والحجم من الخلايا النباتية .



شكل 1- 4 : الشكل الخاص لخلية مستقبله للضوء
. Rod photoreceptor cell

كما يمكن مشاهدة الاختلاف في الحجم في مراحل الدوره الخلوية الانقساميه فالخلايا في مرحلة G_1 و G_2 اكبر حجما من تلك الخلايا الناتجه عن انقسامها ويعود ذلك لانشغال الخلايا خلال المراحل السابقة للانقسام في اعداد نفسها وتهيئة المواد اللازمة للانقسام مما يساهم في زيادة حجم السايتوبلازم بالتالي زيادة حجم الخلايا ولا تلبث هذه أن تفقد هذه الميزه بعد الانقسام .

وتظهر هذه الاختلافات في حجم نوع معين من الخلايا أثناء الانقسام واضحة جداً في الانقسامات الاختزاليه التي تحصل في الانسجه الجنينية للحيوانات . فالانقسامات الاختزاليه في المبايض تؤدي الى انتاج خلايا بيضية كبيره الحجم وأخرى قزميه تدعى بالاجسام القطبيه . وتظهر أن للوظيفه أهميه هنا في تحديد حجم هذه الخلايا . فالخلايا البيضية بحاجة الى سايتوبلازم كثير ومواد غذائيه اكثر نظراً لأهمية دورها في الاخصاب وكذلك للدور الكبير للسايتوبلازم في توجيه الانفلاقات الخلويه عند الاخصاب بينما لا تعتبر الاجسام القطبيه ذات فائده بأستثناء استلامها للكروموسومات الزائده لذلك فأنها ليست بحاجة الى سايتوبلازم لان دورها ينتهي عند لحظه انتهاء الانقسام ولا يعود لها أهميه بعد ذلك .

كما يمكن ملاحظه الاختلاف في شكل الخلايا الانقساميه وبعدها من خلال ملاحظه عملية تكوين الحيوانات المنويه في الخصى . أذ تظهر الخلايا الجنينية هذه بعد الانتهاء من عمليه الانقسام الاختزالي صغيرة كروية لا تلبث أن تغير شكلها وحجمها لتصبح مغزلية مذيله تتمكن من الحركة وتعج بالنشاط .

وإضافة لدور الوظيفة والمرحلة الخلوية في تحديد الشكل والحجم في الخلايا فأن لعمر الخلايا دوراً أخر في ذلك . فالخلايا الفتيه الكاملة النمو تبدو اكبر حجماً واكثر انتظاماً في شكلها مقارنة مع الخلايا الهرمة التي تبدو أصغر حجماً وتظهر فيها الأنثناءات والطيات نتيجة لانخفاض الافعال الايضيه وتراجع حجم السايتوبلازم وزيادة لزوجته .

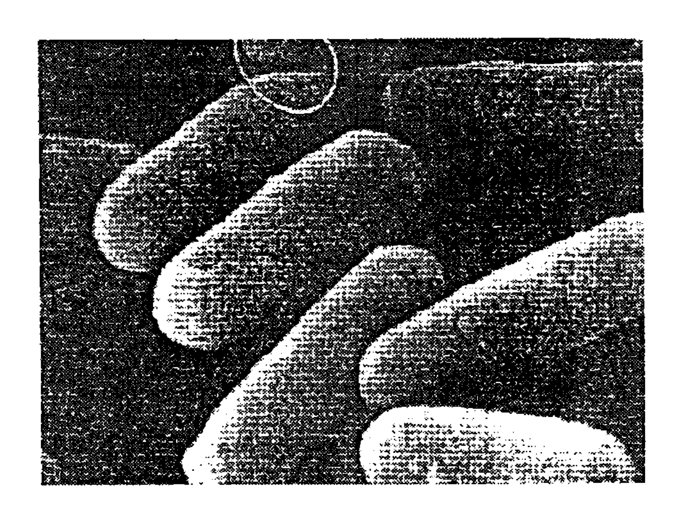
واضافة لما سبق من العوامل التي تؤثر على حجم وشكل الخلايا فأن للعوامل الخارجية ووجود تحورات غشائية دور أخر اضافي . لا يقتصر دور العوامل السابقة في تحديد حجم وشكل الخلايا بل يتجاوزه في التأثير حتى على حجم النوى . ويظهر أيضاً بأن هناك علاقة بين حجم السايتوبلازم وحجم الخلايا وحجم النوى بحيث يتغير حجم النواة بتغير حجم سايتوبلازم الخليه أو حجمها . فقد وجد بأن حجم نوى الخلايا المختزلة الكروموسومات وحجم سايتوبلازمها أصغر من حجم نوى الخلايا مكتملة عدد الكروموسومات وأقل منها سايتو بلازماً . ويبدو بأن حجم النواة ذا أهمية في فرض السيطرة على مساحه محدده من السايتوبلازم وأن جميع الخلايا تحافظ على نسبه شبه ثابته بين حجم النواة و السايتوبلازم ويعزي البعض انقسام الخلايا الى زيادة سعة الخلايا أو زيادة حجم سايتوبلازمها بحيث يؤدي الى اختلال النسبه السابقه وهو ما يدفع بهذه الخلايا الى الانقسام لأجل العوده الى النسبه اللازمة .

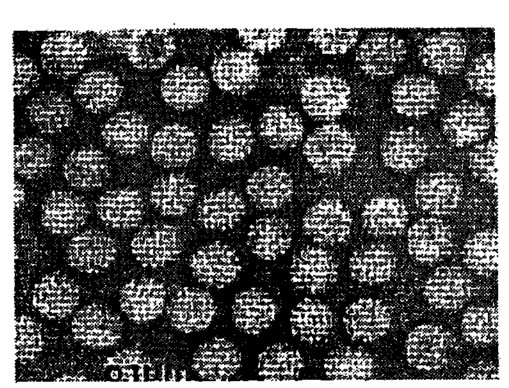
تعمل طبيعة الغلاف الخلوي على تحديد شكل وحجم الخلايا . فالخلايا النباتيه والبكترية اكثر ثباتاً بالحجم والشكل من الخلايا الحيوانية ويعود ذلك الى وجود أغلفة اضافيه ذات طبيعه صلبه اضافة للغشاء البلازمي في هذه الخلايا وغير موجوده في الخلايا الحيوانية .

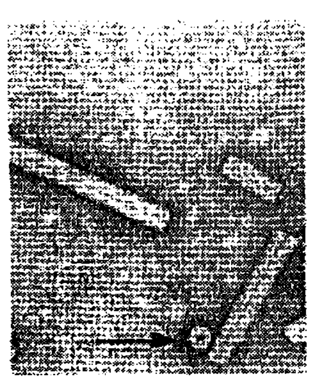
فالخلايا البكتيرية تحاط بغلاف مؤلف من مواد صلبه تختلف مكوناته نوعما عن مكونات الجدران الخلويه النباتيه وهكذا فأن البكتريه العصويه تستمر في نقل أشكالها الى الاجيال الجديده وكذلك الحال في الاشكال الاخرى من هذه الاحياء ولا يعرف في هذه الحاله أهمية الشكل للوظيفه . أما بالنسبه للفايروسات فيبدو بأن للشكل أهمية كبيرة في الحياة فقد وجد بأن الفيروسات الاكثر تعقيداً في الشكل هي الفايروسات الاكثر نجاحاً في اصابة مضائفها والاكثر انتشاراً من الفايروسات الاخرى الابسط شكلاً وتركيباً . فالفايروسات السرطانيه وفايروسات الهربس وفايروسات البكتيريا هي الاكثر انتشاراً والاوسع اصابة للمضائف من الفايروسات

الاخرى وهي في نفس الوقت تعتبر الاكثر تعقيدا في الشكل من جميع الفايروسات المعروفة . (شكل 1 -5)

واستناداً الى ماسبق فأن احجام وأشكال الخلايا تتحدد بعدة عوامل وأن خلايا نسيج معين من أنسجة الخلايا المعقدة ذات أشكال واحده متشابهه تنتظم وتترتب بنفس الطريقه وخاصه بالنسيج . فالخلايا الطلائيه المبطنه للامعاء جميعها تقريباً ذات شكل عمودي وتصبح الخلايا مكعبة في أنسجة الكبد بينما تكون خلايا النسيج الحرشفي مسطحه جميعها وهكذا بالنسبه لبقية أنواع الانسجة .







شكل 1 - 5 : صورة بالمجهر الالكتروني لخلايا بكتيريا ونوعان من الفايروسات .

الخلايا حقيقية النواة والبدائية النواة Eukaryotes & Prokaryotes :

أن معظم الخلايا التي درست بشكل تفصيلي تحتوي غالباً على نواة وسايتوبلازم كما هو الحال في الخلايا الحيوانيه والنباتيه الا أن هناك خلايا أخرى تفتقد لوجود نواة مميزه واضحه في سايتوبلازمها كما هو الحال في البكتيريا والطحالب الزرقاء المخضرة . سميت الخلايا التي تحتوي على نواة مميزه وواضحه و محاطه بغلاف خاص بها بالخلايا حقيقية النواة بينما تسمى الخلايا التي تفتقد لوجود النواة وتنتشر مادتها الوراثيه في السايتوبلازم دون غشاء بالاحياء بدائية النواة .

ولأجل توضيح الفروق الاخرى بين هاتين المجموعتين من الخلايا سنأخذ الخليه الحيوانية كمثال للمجموعه الاولى والخليه البكتيريه كمثال للمجموعة الثانية .

التركيب العام للخلية الحقيقية النواة :

تختلف الخلايا في شكلها وحجمها ويمكن مشاهدة خلايا ذات شكل متغير بأستمرار كما هو الحال في الاميبا الحره وبعض خلايا الدم البيضاء .كما يمكن وجود خلايا ذات أشكال ثابته كما هو الحال في خلايا الدم الحمراء والخلايا الطلائيه والعصبيه والحيوانات المنويه ومعظم خلايا النبات .

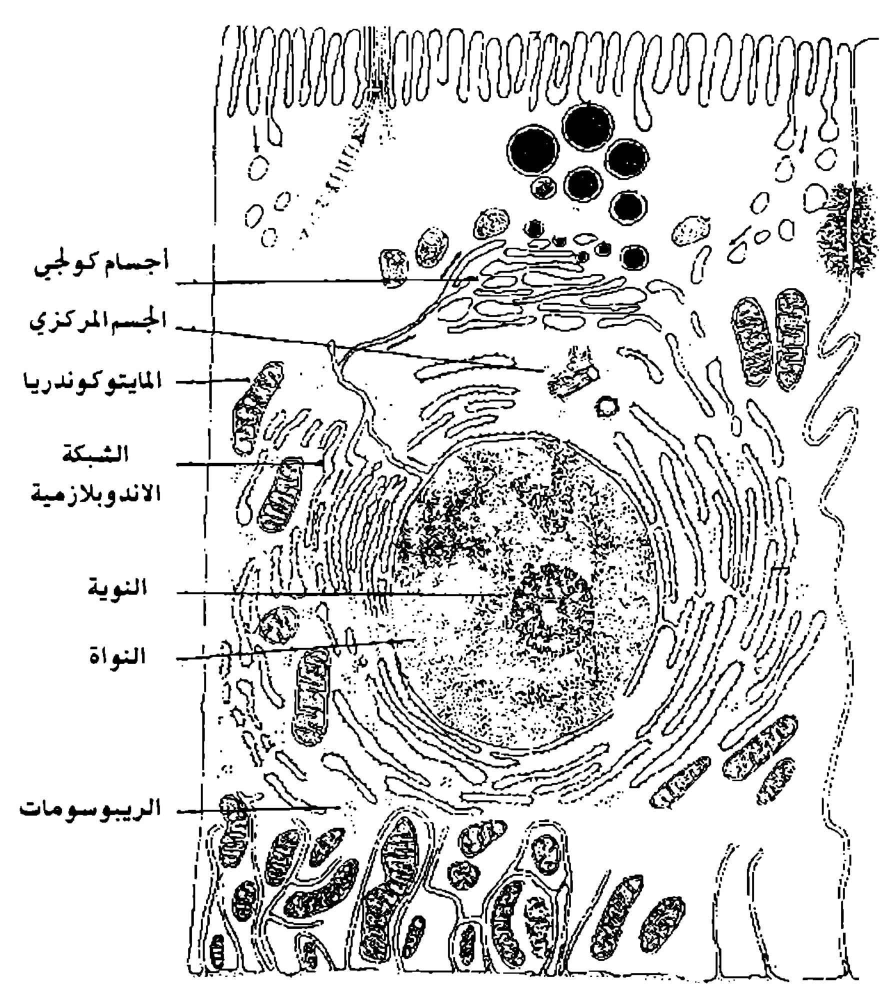
ويظهر بأن شكل الخلايا يعتمد أساساً على نوع الوظيفة التي تقوم بها الخلايا وبشكل جزئي الى عوامل أخرى مثل الشد السطحي للخلايا ولزوجة السايتوبلازم والضغط الميكانيكي المسلط من الخلايا المجاوره وصلابة غشاء الخليه ووجود تركيبات أنبوبيه دقيقه فيه أو في هيكل الخلايا عامة .

أن تربية الخلايا الدموية البيضاء على سبيل المثال على وسط غذائي سائل يؤدي الى أن تأخذ هذه الخلايا الشكل الدائري بسبب الشد السطحي لوجودها في وسط سائل وهو نفس الشكل الذي توجد فيه في الدم . الا أنها تكون متغيرة الشكل عند وجودها في الانسجه أو بينها .

ان الفحوصات المجهرية لهذه الخلايا تظهر أنها مؤلفة من عدد قليل من السطوح

الا ان الخلايا وأغلبها مؤلفة من سطوح متعددة تتراوح ما بين 4 _ 14 ضلعاً .

ان حجم الخلايا حقيقيـة النواة ذو مديات مختلفـه فبعض الخلايا ظاهره للعين كما هو الحال في بيوض الطيور التي يزيد قطرها على عدد من السنتيمترات .الا ان معظم هذه الخلايا مجـهري ولا يزيد قطرها على بضعـه مايكرمتيـرات بأستثناء خلايا معينـة مثل الخلايا العصبيه .ويظهر بأن حجم الخلايا عند الانسان اكبر كثيراً مما كان يقدر سابقاً وهي تتراوح ما بين 200 _ 15,000 مايكرومتيـر مكعب (شكل 1 - 6) .



شكل 1 - 6 : تخطيط لخلية طلائية حقيقية النواة

وبشكل عام فأن حجم الخلايا ثابتا نوعما بالنسبه لنوع معين من الخلايا حيث يظهر بأن لخلايا الكبد أو الكليه مثلاً حجماً متشابها في الفئران والخيول والانسان وأن حجم العضو الذي توجد فيه يعتمد على عدد الخلايا المؤلفه له وليس لحجم خلايا علاقة بذلك .

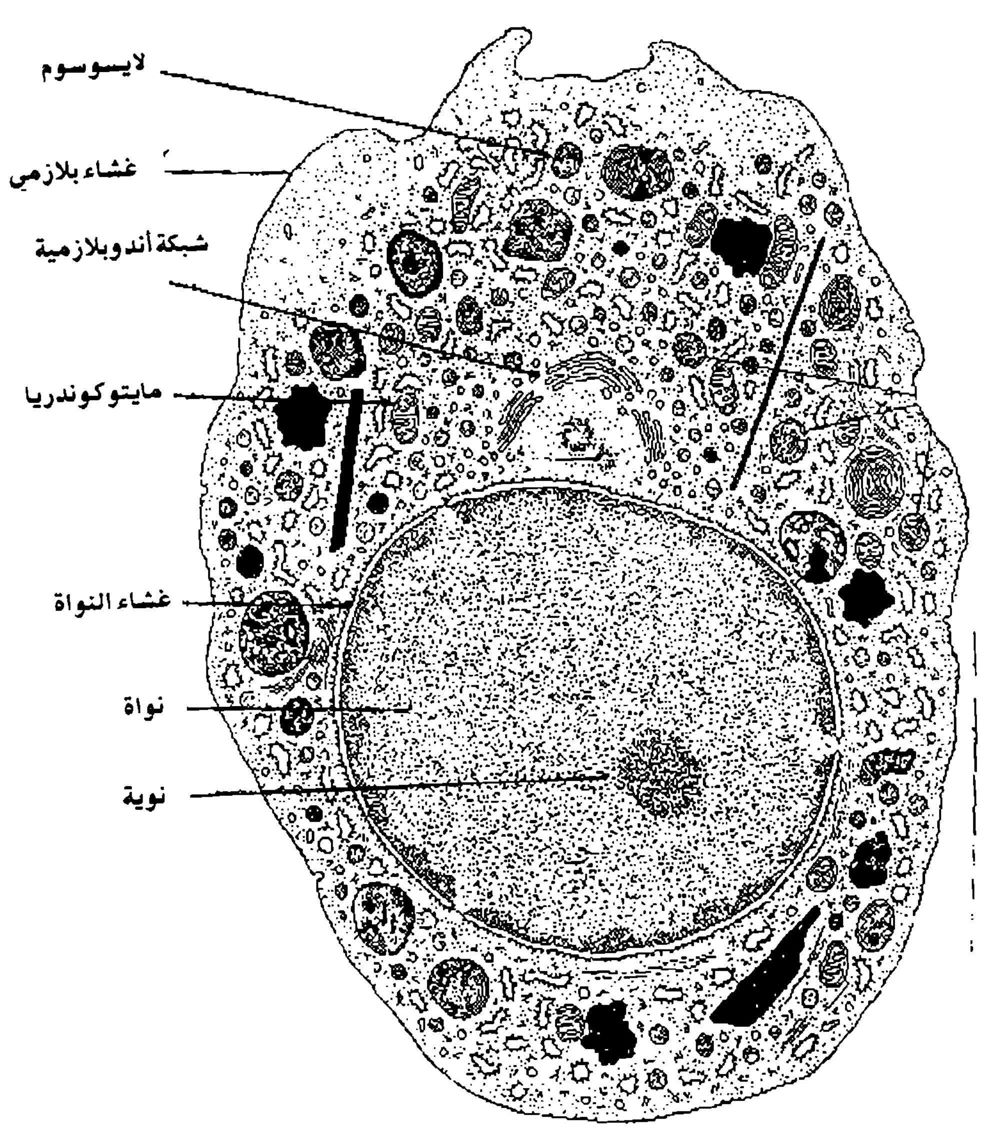
عند فحص الخلايا حقيقية النواة تحت المجهر فأنه يظهر بأنها تحتوي في الوسط على الأغلب على نواة كرويه أو بيضويه واضحه ومميزه وتحتوي على نويه واحدة أو نويتان .وتفصل النواة عن ما يحيطها بغلاف نووي .تظهر النوى في المرحلة البينية غير الانقساميه لا تحتوي على أجسام أو جزيئات داخليه الا أنه عند استعداد الخليه للانقسام تظهر داخلها أجسام طويله يختلف شكلها اعتماداً على المرحله الانقساميه وتدعى هذه الاجسام بالكروموسومات .

تحتوي الخلايا الحقيقية النواة أيضاً على سائل متجانس يدعى بالسايتوبلازم يحيط بالنواة ويحتوي على أجسام لماعه مختلفة الحجم منها المايتوكوندريا وقطرات الدهون والمح والاصباغ .

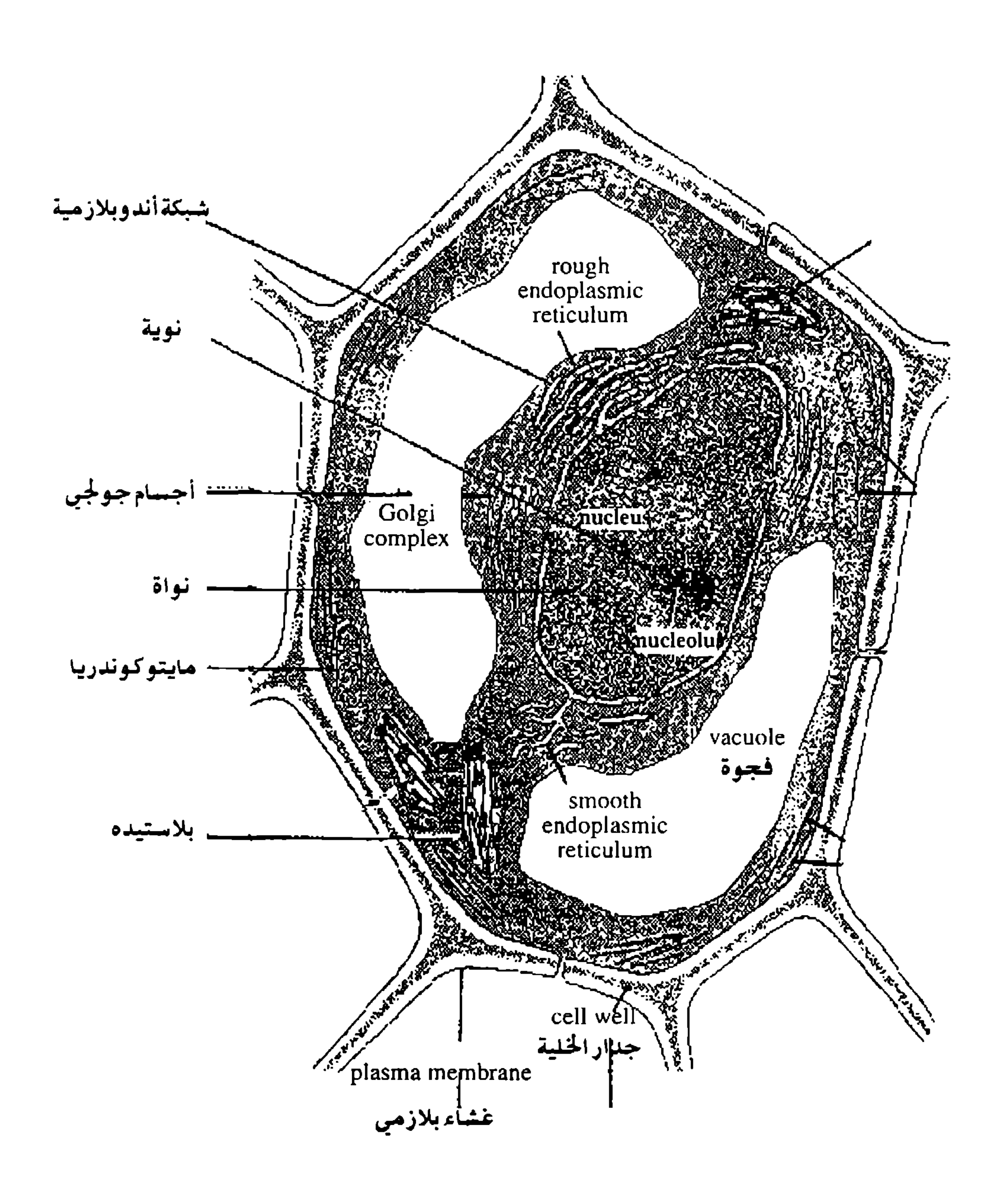
يظهر جزء السايتوبلازم المحيطي المجاور للغشاء البلازمي الذي يحيط كل خليه بأنه اكثر كثافة بسبب لزوجته العاليه وعدم أحتواءه على عضيات ويدعى بالاكتوبلازم Ectoplasm . بينما يكون السايتوبلازم الداخلي اكثر سيولة ويحتوي على معظم العضيات السايتوبلازميه ويدعى بالاندوبلازم Endoplasm .

تظهر جميع الخلايا حقيقية النواة وغيرها محاطه بغشاء رقيق يحددها ويحفظ محتوياتها يدعى بالغشاء البلازمي وله وظائف مهمه جداً للخلايا .يحاط هذا الغشاء في معظم الخلايا بغلاف أو أكثر من غلاف .فالخلايا الحيوانيه تحاط بطبقه رقيقه تمثل هذا الغلاف ولا يمكن مشاهدته بالمجهر الضوئي بسبب رقته البالغه .أما الخلايا النباتيه فتظهر جدران قويه تمثل أغلفه لها مؤلفة غالباً من السليلوز وتدعى هذه بجدران الخلايا وهي أسمك بكثير من الطبقات الرقيقه المحيطه بالخلايا الحيوانية .

أن فحوصات المجهر الالكتروني أوضحت بأن الخلايا تحتوي على عضيات سايتوبلازميه أخرى لا يمكن مشاهدتها بالمجهر الضوئي منها الشبكه الاندوبلازميه والريبوسومات واللايسوسومات وأجسام كولجي وفجوات أضافة للبلاستيدات الموجوده في الخلايا النباتية فقط .وقد قدم المجهر الالكتروني معلومات وافره عن التركيب الجزيئي الدقيق للعديد من أجزاء الخلية وساهم ذلك كثيراً في تطوير فهمنا عن الخلايا .تحتوي بعض الخلايا الحقيقية النوى على أهداب أو أسواط أو ذيول تستخدم أما للحركه أو لخدمة وظيفة معينة تقوم بها الخلايا كما هو الحال في الخلايا المبطنة للقنوات التنفسيه وقناة المبايض والحيوانات المنويه وغيرها (أشكال 1_7 و8) .



شكل 1 _ 7 : تخطيط لخلية حقيقية النواة متغيرة الشكل (خلية ملتهمة . Phagocyte)



شكل 1 _ 8 : تخطيط لمكونات الخلية النباتية حقيقية النواة .

تركيب الخلية بدائية النواة :

الخلايا بدائية النواة خلايا أصغر حجماً من الخلايا حقيقيـة النواة ولا تحتوي على نواة متميزه بسبب عدم وجود غلاف نووي يحيط مادتها الوراثية . لذلك فأن مادتها الوراثية تكون بتماس مباشر مع السايتوبلازم .من الناحية التطورية تعتبر الخلايا بدائيـة النواة الاسـلاف القديمة التي أنحدرت منها الخلايا حقيقيـة النواة .وتظهر المتحجرات التي عثر عليها والتي تعود الى اكثر من ثلاثة بلايين سنه مضت خلايا بدائية النواة فقط بينما يعود ظهور الخلايا حقيقية النواة الى حوالي بليون سنة بعد ذلك .

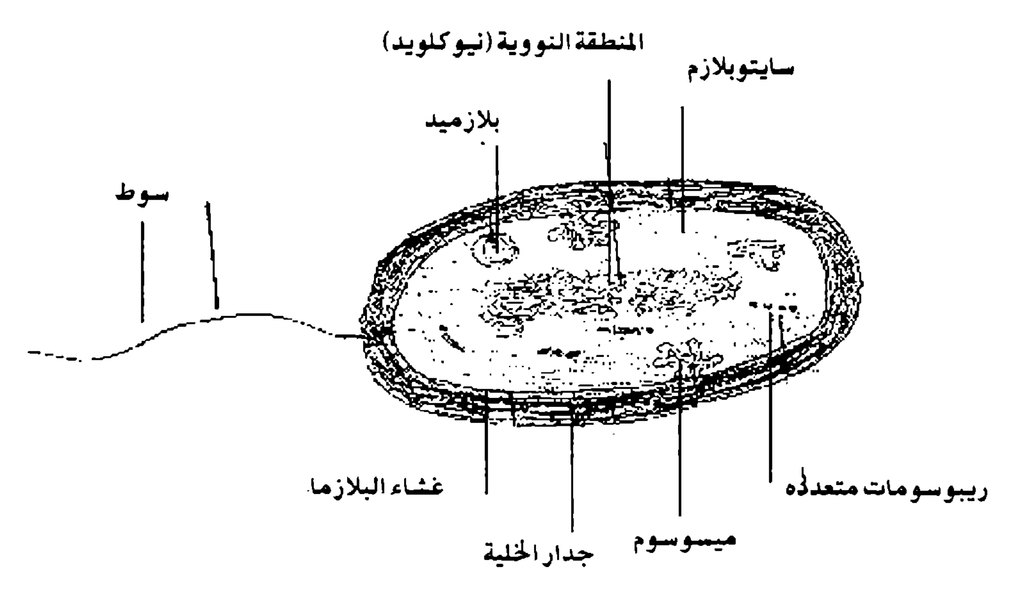
ومع وجود الكثير من الاختلافات بين الخلايا بدائيه وحقيقيـة النواة فأن هناك العديد من التماثل بينهما وخصوصا على المستوى الجزيئي حيث أن لتراكيبها نفس المكونات والمظهر تقريبا أضافة لتشابه وظائف العديد من أجزاءهما وشفراتهما الوراثية .

تعتبر البكتريا أفضل الامثلة على الخلايا بدائيـة النواة وهي خلايا صغيرة يبلغ طولها حوالي 3 مايكروميتر وعرضها حوالي مايكروميترواحد .تختلف أشكال البكتريا وحجومها فبعضها كروي وأخرى عصويه وبعضها ذو أشكال حلزونيه أو ذات أشكال خاصه .كما تترتب البكتريا بطرق مختلفه مزدوج وأخرى مسبحيه وبعضها يشبه عنقود العنب .

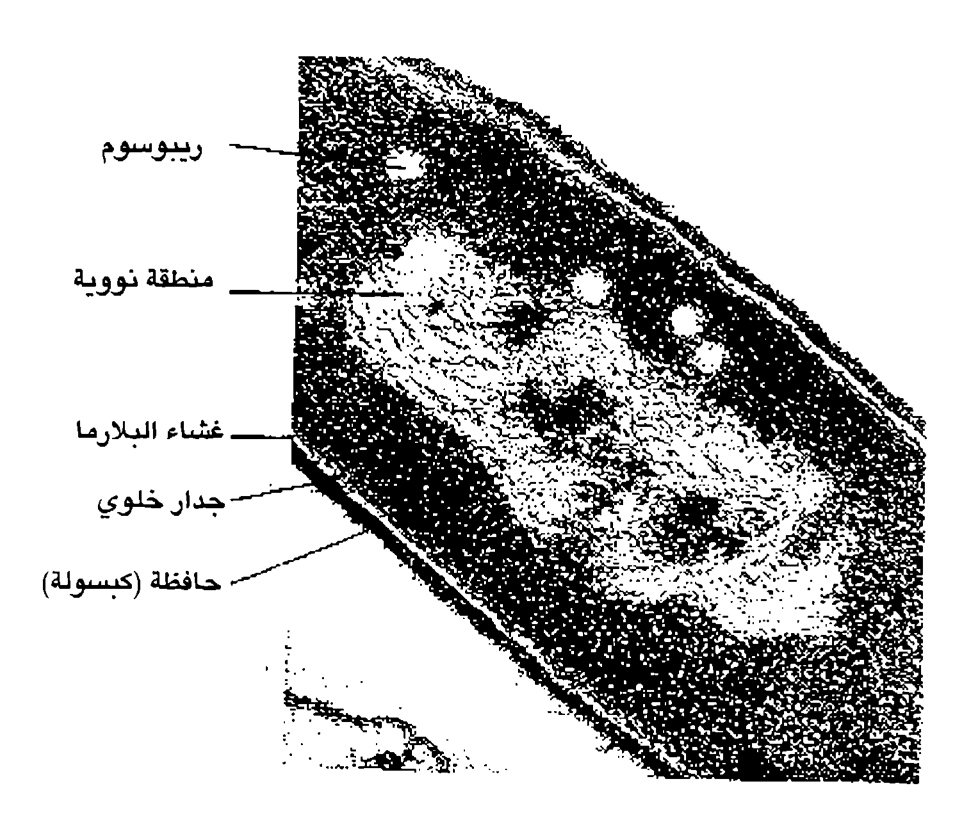
تظهر خلية البكتريا تحت المجهر بأنها مؤلفـة من منطقـه وسطيـة كثيفـة تنتشر فيها الماده الوراثيـة المؤلفـه من كروموسوم خيطي كثير الطيات واللفات .تدعى هذه المنطقه بالنيوكلويد Nucloid وينتشر حولها السايتوبلازم الذي يحتوي على عدد من الريبوسومات المتعددة . تفتقد البكتريا لكثير من العضيات السايتوبلازميـة التي تحدثنا عنها في الخلايا حقيقيه النواة مثل المايتوكوندريا والشبكه الاندوبلازميه وجهاز كولجي واللايسوسومات وغيرها ويقوم الغشاء البلازمي بالكثير من الوظائف التي تقوم بها هذه العضيات .كما قد تحتوي بعض أنواع أو سلالات البكتريا على

جزيئات DNA حلقية في سايتوبلازمها تدعى بالبلازميدات ذات أهمية كبيره في مناعـة البكتريا ضد بعض المضادات الحياتية .يختلف عدد البلازميدات في الخليه الواحده ولكنه يتراوح ما بين بلازميد واحد وعدة آلاف منها .

تحاط خلية البكتريا بغشاء بلازمي مشابه في تركيبـه الدقيق لغشاء الخلايا حقيقية النـــواة الا ان له وظائـف اكثر اهمهـــا القيام بأطـــلاق الطاقة بدلاً من المايتوكوندريا لأحتـواءه على العديـد مـن الأنزيمات التنفســية (أشــكال 1 _ 9 و 10) .



شكل 1 _ 9 : التركيب العام لخلية بكتريا بدائية النواة .



شكل 1 _ 10 : صورة بالمجهر الالكتروني لخلية بكتريا ـ بدائية النواة موضحاً عليها الجزاء المؤلفه لها .

يحاط الغشاء البلازمي في جميع أنواع البكتريا بغلاف آخر هو غلاف الخليه الذي يتألف من بروتين وسكريات متعدده مرتبطه مع البروتينات أو الدهون أضافة لمواد أخرى .يختلف سمك هذا الغلاف في البكتريا .ففي البكتريا الموجبه لصبغة جرام يكون الغلاف سميكاً ومؤلف في الغالب من وحدات كربوهيدراتيه ـ بروتينيه بهيئة طبقات مرتبطه مع بعضها .بينما تنحسر هذه الطبقات كثيراً في البكتريا السالبه لصبغة جرام وتبدو معها طبقات أخرى مؤلفة من سكريات دهنيه متعدده ودهون بروتينيه مختلفة .كما قد تظهر طبقات أخرى أضافيه في بعض البكتريا . كما تحتوي البكتريا على سوط واحد أو عدة أسواط وتتوزع في حالة وجود أعداد منها بترتيبات متعددة .

تتكاثر معظم أنواع الخلايا بدائية النواة بالانشطار البسيط او الانقسام المباشر الذي يتم من خلاله أنشطار الخليه الواحده الى خليتين دون حدوث الكثير من التعقيدات التي تظهر في الانقسام غير المباشر الذي تمر فيه الخلايا حقيقية النواة .

الفصل الثاني

كيمياء المركبات الخلوية

Chemistry of the Cellular Components

مقـــــدمة :

أن التعريف الكيميائي للخلية والذي ينص «على أن الخلية هي تجمع لعدد هائل من الجزيئات المختلفة والتي تنتظم بصوره عالية الدقةتمكن الخلية من أداء فعاليتها الحياتية المختلفة» يوضح لنا الاهمية البالغة لمعرفة التركيب الكيميائي للمركبات والجزيئات هذا إضافة لمعرفة أهمية وجودها بالصورة التي توجد فيها في الخلايا .

ونظراً لاختلاف الخلايا وتنوع وظائفها فإن هذا التركيب يختلف في تفاصيله من نوع خلايا الى أخرى ولكننا سنتحدث عن الصورة العامة للتركيب الكيميائي للخلية .

يمثل الماء النسبة الكبيرة في تركيب الخلايا حيث تبلغ نسبته حوالي 90 - 60 % وهو ما يجعل الاوكسجين والهيدروجين تبعاً لذلك يحتلان النسبة العالية في الخلايا . وتتوزع باقي النسب على المركبات اللاعضوية والعضوية وغيرها . وسنتناول هذه المركبات في تفصيل مناسب لهذا الكتاب وبشكل يخدم الفصول الاخرى القادمة .

الماء في الخلية Water :

يتألف الماء من جزيئات مترابطة مع بعضها بأواصر هيدروجينية متعددة وتتركب الجزيئة الواحدة منه من ذرة أوكسجين وذرتان من الهيدروجين . أن ذرة الاوكسجين ذات شحنة سالبة ثنائية التكافؤ لذلك ترتبط بها ذرتا هيدروجين مؤدية الى تكوين جزيئة الماء ذات القطبية الثنائية الضعيفة . ويعزى الى هذه الصفة أهمية الماء كأهم المذيبات للاملاح الهامة في العمليات الحيوية وكذلك مذيب لعدد كبير من المركبات العضوية .

وأضافة لكونه مذيب شائع ومهم فأنه يمثل أيضاً وسطاً لعمل العديد من المركبات الحيوية . فالكثير من التفاعلات الايضية تجري في وسط مائي وتنتقل

عبره الكثير من المواد . كما أنه يدخل في تركيب عدد من المركبات مثل البروتينات والكاربوهيدرات والدهون وغيرها .

ونتيجة للتركيب الفريد لجزيئات الماء فقد أتصف الماء بصفات مميزة ذات أهمية كبيرة للحياة ومن أهم هذه المميزات :

1. الماء هو اكثر المركبات ثبوتاً من جميع المذيبات المعروفة الاخرى بسبب تركيبه الكيميائي البسيط وقطبيته الثنائية .
2. وجوده في ثلاث صور بدرجة الحرارة 15 وهي الصورة الصلبة (الجليد) و الغازية (البخار) والسائلة .
3. يحتاج الماء الى سعره حرارية واحده لكل غرام منه ليرتفع درجة حرارية واحدة مما يوفر للماء سعة حرارية نوعية عالية ذات أهمية بالغة في محافظة الكائنات الحية على حرارة أجسامها .
4. يحتاج 1 غم من الماء الى 500 سعره حرارية ليتحول الى بخار وهو ما يساعد الاجسام الحية على التخلص من كمية كبيرة من الحرارة الفائضة وتحويلها الى الماء ليتبخر وهو ما يساعدها على بقاء درجات حرارتها ثابتة إضافة لتلطيف البيئة التي حولها .
5. للماء كثافة قصوى يصلها بدرجة حرارة 4 م° تنخفض بعدها بأنخفاض درجة الحرارة وهو ما يفسر طوفان الجليد على سطح الماء وهو بذلك يخالف جميع السوائل الاخرى التي تزيد كثافتها بأنخفاض درجات الحرارة .
6. تساعد شدة توتر سطحه العالية على تماسك المادة الحية السائلة داخل الخلايا وتعتبر شدة التوتر هذه أعلى شدة بعد تلك التي يتميز بها الزئبق . ويمكن مشاهدة قوة الشد السطحي للماد عند سير الحشرات على سطح الماء حيث يظهر وكأن الماء مغلف بغشاء مرن .
7. أن مساهمة الماء في المساعدة على إنتقال الجزيئات إضافة لحركته داخل الخلايا

والاجسام يوضح بأن للماء لزوجة منخفضة .

8. بسبب القطبية الثنائية للماء فهو يعتبر من اكثر المذيبات أهمية للمواد العضوية واللاعضوية .

البروتينات **Proteins** :

تؤلف البروتينات ما نسبته 80 - 85 % من الوزن الجاف للخلايا مما يعكس الاهمية الكبيرة لها حياتياً .

يتألف البروتين من سلاسل مختلفة العدد تبعاً لنوع البروتين ويختلف كذلك تنظيمها وطريقة التفافها على بعض .

تتألف كل سلسلة من سلاسل عديد الببتيد هذه من وحدات متكررة تدعى بالاحماض الامينية يبلغ عددها حوالي عشرون حامضاً . أن كل حامض أميني يتألف من ذرة كاربون مركزية تدعى بذره كاربون الفا ترتبط معها مجموعة كاربوكسيل من جهة ومجموعة أمين من جهة ثانية إضافة لسلسلة جانبية تدعى بمجموعة R .

$$\begin{array}{c} H \\ | \\ NH_2 — C — COOH \\ | \\ R \end{array}$$

وتمثل مجموعة R الاختلاف في هذه الوحدات فقد تكون هذه المجموعة ممثلة بالهيدروجين كما هو الحال في الجلايسين أو سلسلة كاربونية متفرعة كما هو الحال في الليوسين أو غير متفرعة كما هو الحال في الجلوماتامين . كما أنها قد تتضمن حلقة أروماتيه كما هو الحال في التايروسين .

أن تركيب الحامض الاميني السابق يمنح البروتين قوة كبيره في التأصر مع مركبات عديده مختلفة في الخلية . فمجموعة R يمكن أن تكون غير قطبية وكارهه

للماء مما يساعدها في الذوبان في الدهون كما هو الحال في الحامض الاميني الليوسين والفنيل النين بينما تذوب القطبية منها في الماء عن طريق تكوين الاواصر الهيدروجينية كما هو الحال في السيرين والتربتوفان والهستدين (شكل 2 - 1) . كما قد تكون مجموعة R في الحامض الاميني متأينه ذات شحنة سالبة كما في حامض الاسبارتيك أو موجب الشحنة كما في الحامض الاسبرجين أو قد تكون غير متأينه .

هذا إضافة الى ان بعض مجاميع R في الاحماض الامينية ذات قدرات تآصرية مختلفة بسبب التنوع الكبير في هذه المجاميع .

أن وجود مجموعتين أضافة لمجموعة R الا وهي مجموعة الامين والكاربوكسيل تعملان على جعل الاحماض الامينية كجزيئات أمفوتيريه حيث يصبح الحامض الاميني موجب الشحنة أو سالب إعتماداً على الاس الهيدروجين للمحلول . كما أنه يكون متعادلاً في المحاليل المتعادلة .

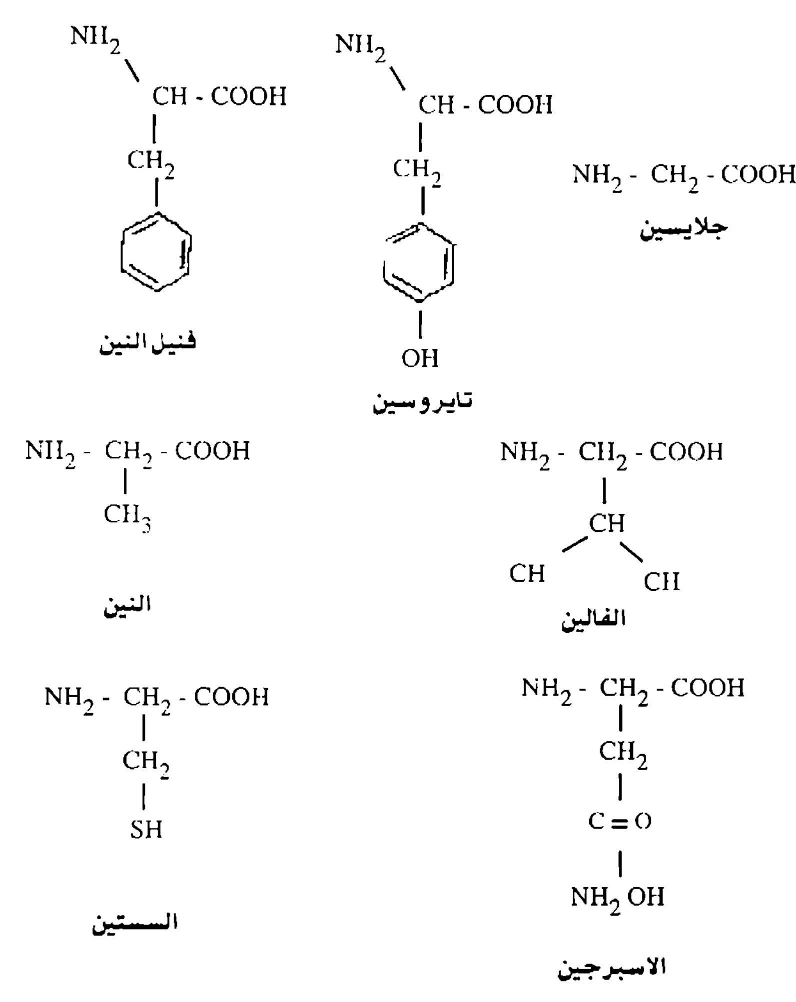
تتولد سلسلة عديد الببتيد من أرتباط الاحماض الامينية مع بعضها أعتماداً على توارد الشفرات الوراثية . وتلتف هذه السلاسل بطريقة معينة لتشكل البروتين .

ترتبط مجموعة الكاربوكسيل لحامض أميني مع مجموعة الامين للحامض الاميني التالي وتدعى هذه الرابطة بالرابطة الببتيدية .

```
          H                      H
          |       O              |
          |       ||             |
NH2 ——— C ——— C [OH - H] - NH - C - COOH
          |              ▲       |
          R              |       R
                  الرابطة الببتيديه
```

ترتبط سلاسل عديد الببتيد مع بعضها بصوره منظمة لتوليد البروتين كما قلنا ويوفر مثل هذا الارتباط خصائص مهمة للبروتين حين تتوفر عدد من المواقع

النشيطة في هذا التركيب تجعل البروتين ذو قابلية عالية على التفاعل مع المركبات العضوية الاخرى . ويمكن تبعاً لذلك وجود البروتين بصوره بسيطة حرة أو مرتبطة كما هو الحال في البروتينات الدهنية والكاربوهدراتيه . كما يمكن للبروتين الارتباط مع مركبات أو عناصر غير عضوية كما هو الحال في ارتباط الجلوبين مع الحديد في كريات الدم الحمراء لانتاج الهيموغلوبين أو في الارتباط مع الكبريت أو النحاس وغيرها (البروتينات المقترنة) .



شكل 2 - 1 : أختلاف مجموعة R في عدد من الاحماض الامينية مما يعطي البروتين قدرة عالية على التآصر والتفاعل مع المركبات الاخرى .

الدهـــون Lipids :

وهي جزيئات ذات قطبية منخفضة ولذا فأنها لاتذوب في الماء ولكنها تذوب في المذيبات العضوية مثل الاسيتون والايثر والزايلول . تتألف الدهون من سلاسل هيدروكربونية طويلة يدخل في تركيبها الكاربون والهيدروجين والاوكسجين وقد ترتبط معها عناصر أخرى مثل الفوسفور والكبريت والنتروجين .

تقسم الدهون الى ثلاثة أنواع وهي :

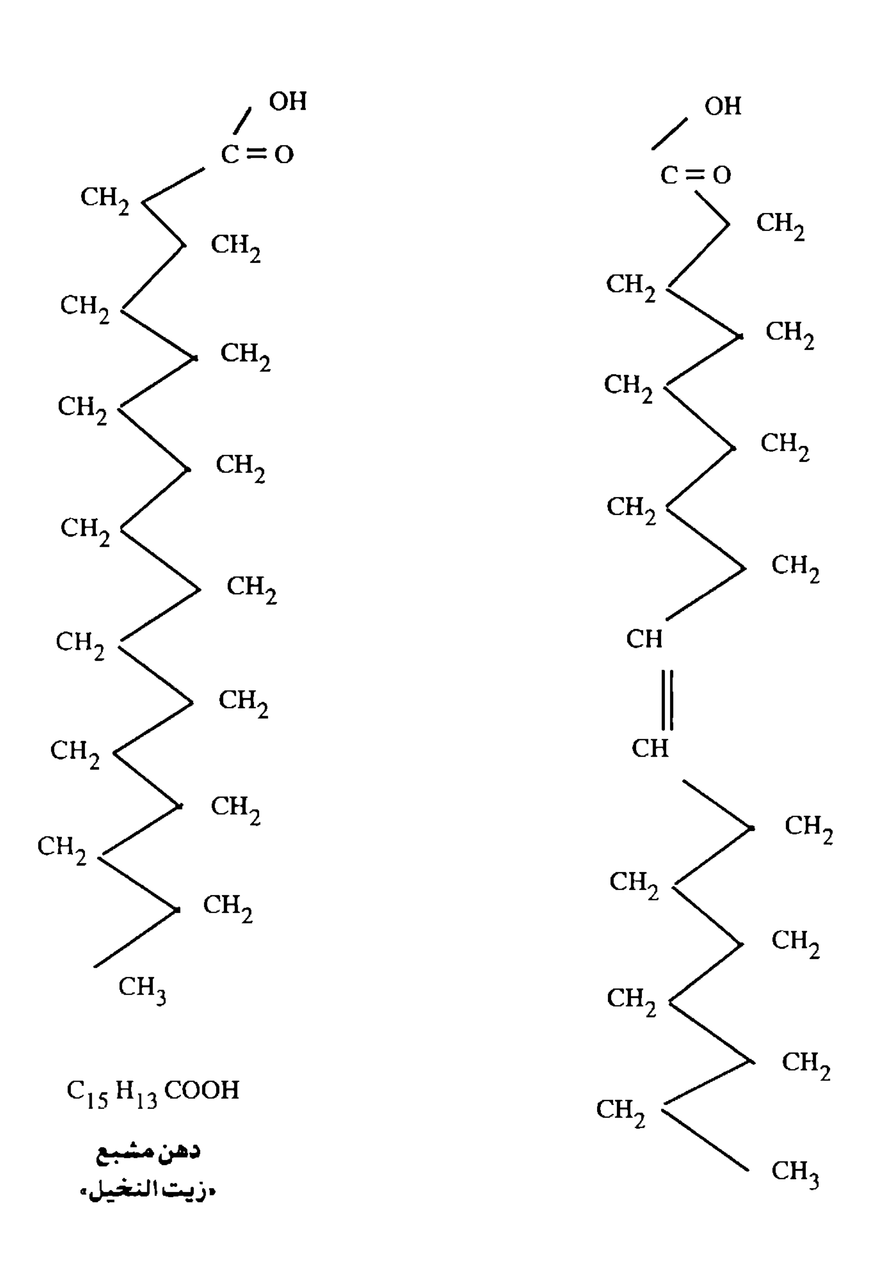
1. الدهون المتعادلة أو الحقيقية .
2. الدهون المفسفرة .
3. السترويدات .

تتألف الدهون من جزيئة جليسرول مرتبطة مع ثلاثة أحماض دهنية ويرمز لتركيبها عادة بالصيغة R - CO OH حيث تمثل R الاحماض الدهنية وقد يكون الكاربون فيها مشبعاً بذرتي هيدروجين تسمى عندئذٍ بالدهون المشبعة أو يكون الكاربون فيها مرتبطاً مع ذرة هيدروجين واحدة وتسمى عندئذٍ بالدهون غير المشبعة (شكل 2 - 2) .

تتركب الدهون المتعادلة من كاربون وأوكسجين وهيدروجين وتستخدم غالباً في إطلاق الطاقة ولا تدخل في تركيب الاغشية الخلوية أو غيرها .

وتتأستر هذه الدهون مع الكحول مؤدية الى الحصول على جليسريدات أحادية وثنائية وثلاثية والتي هي دهون بهيئات سائلة أو صلبة كما تعتبر الشموع دهون متعادلة ويستبدل الجليسيرول في سلاسلها بالكحول (شكل 2 - 3) .

ونظراً لوجودها في هيئة جليسريدات فأن الدهون المتعادلة لا تشترك مع بقية المركبات بل أنها موجودة أما بصورة مستحلبة أو شحوم مخزنة .



شكل 2 - 2 : جزيئتان من الدهون المشبعة وغير المشبعة .

$$C_{17}H_{35}COOH + HO-CH_2 \longrightarrow CH_2-O-CO(C_{17}H_{35})$$

$C_{17}H_{35}COOH$	$HO-CH_2$	$CH_2-O-CO(C_{17}H_{35})$
$C_{17}H_{35}COOH$ +	$HO-CH_2$ ⟶	$CH\,OH$
$C_{17}H_{35}COOH$	$HO-CH_2$	$CH_2\,OH$
حامض الستيارك (3 جزيئات)	الجليسرول	جليسريد أحادي

$$\begin{array}{l} CH_2-O-CO(C_{17}H_{35}) \\ | \\ CH-O-CO(C_{17}H_{35}) \\ | \\ CH_2\,OH \end{array}$$

جليسريد ثنائي

$$\begin{array}{l} CH_2-O-CO(C_{17}H_{35}) \\ | \\ CH-O-CO(C_{17}H_{35}) \\ | \\ CH_2-O-CO(C_{17}H_{35}) \end{array}$$

جليسريد ثلاثي

شكل 2 - 3 : تكوين الجليسيريدات الدهنية ويلاحظ بأن نوع الجليسريد يعتمد على عدد جزيئات حامض الستيارك المرتبطة مع الجليسرول .

أما الدهون المفسفرة فهي دهون لا تستخدم في الاحتراق واطلاق الطاقة كما هو الحال في الدهون الحقيقية بل تدخل في تركيب الاغلفة الخلوية والاغلفة المحيطة بالعضيات السايتوبلازمية .

تتألف هذه الدهون من جليسرول وأثنان من الاحماض الدهنية إضافة لمجموعة فوسفات كما هو الحال في دهن الليسشين المؤلف للاغشية العصبية . ولهذا النوع من الدهون القدرة الكبيرة على الارتباط مع المركبات الخلوية الاخرى بسبب وجود القطبية في جزيئاتها والتي تعود لوجود مجموعة الفوسفات .

وقد تتصل مجموعة الهيدروكسيل في الدهن مع الكاربوهيدرات (السكريات مثلاً) مولدة الدهون السكرية كما يمكن أن يحل الكحول الاميني بدلاً من الجليسرول . ويمكن أن نجد جميع أنواع هذه الدهون المعقدة في الاغلفة الخلوية المختلفة .

أما الستيرويدات فهي مركبات كحولية لا تشابه في تركيبها الدهون ولكنها تشابهها في الصفات كما هو الحال في الكوليسترول و هرمونات الغدة الكظرية والهرمونات الجنسية .

تتألف الستيرويدات من هيدروكربونات حلقية ترتبط مع سلسلة كاربونية في أحد نهايتها ويمكن أن يكون هذا المركب ذو نهاية محبه للماء وأخرى كارهه له كما هو الحال في تركيب الكوليسترول (الشكل 2 - 4) .

شكل 2 - 4 : التركيب الكيميائي **للكوليسترول .**

الكاربوهيدرات Carbohydrates :

وهي مركبات حياتية معقدة تتألف من الكاربون والماء بنسبة ثابتة وقد تحتوي أيضاً على الكبريت والنتروجين .

تعتبر الكاربوهيدرات من اكبر مصادر الطاقة في الخلايا حيث ينتج من جزيئة جلوكوز واحدة على سبيل المثال مقدار صافي من الطاقة قدره 38 جزيئة ATP . كما أن هذه المركبات تدخل أيضاً بنسب بسيطة في تركيب الاغشية الخلوية وغيرها إضافة لارتباطاتها مع مركبات عضوية فعالة داخل الخلايا .

وأعتماداً على تعقيد الكاربوهيدرات فأنه يمكن تصنيفها الى ثلاثة مجاميع هي :

1. السكريات البسيطة أو الاحادية .
2. السكريات القليلة .
3. السكريات المعقدة .

السكريات البسيطة :

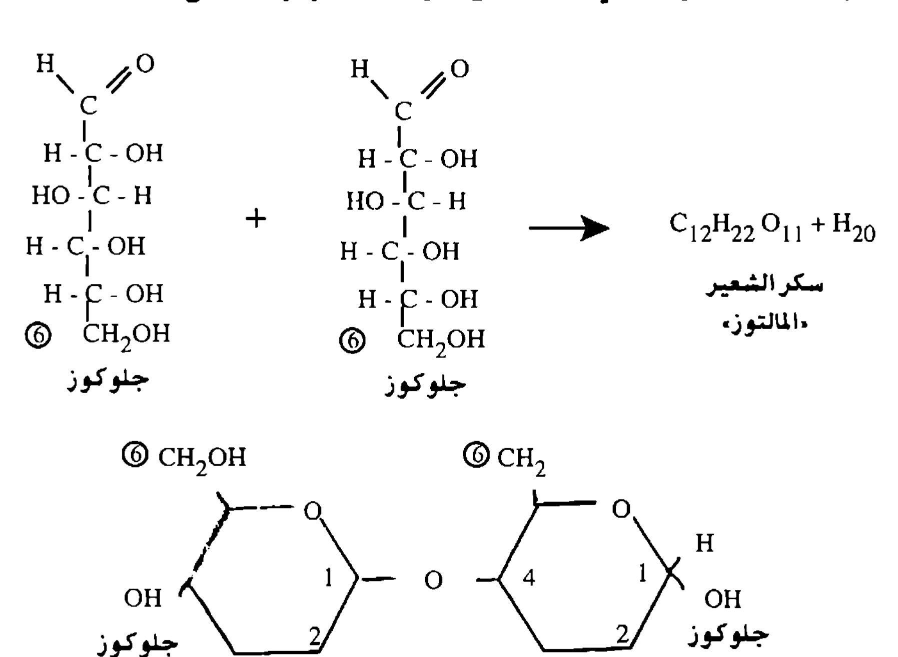
وهي سكريات مؤلفة من 4 - 10 ذرات كاربون ويمكن أن تكون هذه الذرات منتظمة على هيئة حلقة كما هو الحال في السكر الريبوزي الخماسي أو على هيئة حلقات سداسيه . وترتبط مع هذه الاشكال مجاميع كيميائية مختلفة مثل مجموعة المثيل و الالدهايد والكيتون والهيدروكسيل وأشهر هذه السكريات الجلوكوز و الفركتوز والجلاكتوز وغيرها (شكل 2 - 5)

الفركتوز	الجلاكتوز	الجلوكوز
H_2	H \ C // O	H \ C // O
① C - OH	① C	① ② C
C = O	H - C - OH	H - C - OH
HO - C - H	OH - C - H	OH - C - H
H - C - OH	HO - C - H	H - C - OH
H - C - OH	H - C - OH	H - C - OH
⑥ CH_2OH	⑥ CH_2OH	⑥ CH_2OH

شكل 2 - 5 : ثلاثة أنواع من جزيئات السكريات الاحادية البسيطة .

السكريات القليلة :

وهي سكريات مؤلفة من 2 - 4 جزيئات من السكريات الاحادية كما هو الحال في سكر القصب (السكروز) الذي يتألف من جزيئتين من الجلوكوز والفركتوز (سكر الفواكه) وسكر الحليب الذي يتألف من جزيئة سكر جلوكوز وأخرى جلاكتوز وسكر الشعير (المالتوز) الذي يتألف من جزيئيتن جلوكوز (شكل 2 - 6)



شكل 2 - 6 : بعض أنواع السكريات القليلة .

السكريات المتعددة

وهي جزيئات متعددة من السكريات البسيطة وخصوصاً الجلوكوز ويختلف عدد جزيئات الجلوكوز الداخله في تركيبها لذلك يرمز لها بالصيغة $(C_6H_{12}O_6)n$. وقـد ترتبط السكريات المتعـددة مع البـروتينات أو مع مجـاميع من الكبـريت أو غيـرها (شكل 2 - 7) .

ومن أشـهـر أنواع السكريات المتعـددة السكريات المتعـددة المخاطية والكايتين والهيبارين والكلايكوجين والنشا وغيرها .

الكلايكوجين

الهيبارين

الكايتين «سكر مخاطي»

شكل 2 - 7 : أنواع مختلفة من السكريات المتعددة .

الانـــزيمات Enzymes :

الانزيمات عوامل حفازة للتفاعلات الكيميائية وذلك عن طريق تزويدها بطاقة تنشيط Activation energy دون أن تدخل في التفاعلات أو تتحطم .

الانزيمات بروتينات بسيطة في الغالب الا أن بعضها مؤلف من بروتينات معقدة يصل وزنها الجزئي الى اكثر من مليون .

يعود تعقيد تركيب هذه الانزيمات الى أرتباطها مع مجموعة غير بروتينية ترتبط مع البروتين الذي يعرف بالابوأنزيم Apoenzyme ويسمى المعقد الكامل بالهولوأنزيم Holoenzyme . وعندما يرتبط الجزء غير البروتيني من المعقد أرتباطاً وثيقاً مع البروتين فإنه يمكن أن يعد جزء منه ويدعى عندها بالمجموعة الملحقة Prosthetic group . أما إذا كان الارتباط ضعيفاً فإنه يعد كوحدة مستقلة تدعى بمرافق الانزيم Co enzyme عندما يكون المركب غير البروتيني مادة عضوية مثل الفيتامينات وبالعامل المساعد Co - factor عندما يكون المركب غير البروتيني مؤلف من مادة غير عضوية مثل أيونات الحديد والنحاس والزنك والكالسيوم وغيرها .

ومن ابرز مرافقات الانزيم فيتامين B في الانزيم NADP والعوامل المساعدة مثل Carbonic anhydroginase الذي يحتوي على أيون الزنك والسايتوكروم C و 450 التي تحتوي على الحديد وأنزيم الاميليز الذي ينشط بوجود أيونات الكلور وأنزيمات الكاينيز مع وجود أيونات المغنيسيوم وأنزيم الكحول ديهايدروجينيز بوجود ايونات الزنك .

تمتلك الانزيمات أماكن خاصة نشيطة تتأصر من خلالها مع أماكن مماثلة موجودة في المواد الداخلة في التفاعل Substrates . تختلف الانزيمات في تخصصها فبعضها ذو تخصص مطلق لمادة تفاعلية واحدة مثل أنزيم اليوريز Urease الـــذي يعمل على تحلل اليوريا الى ماء وثاني أوكسيد الكاربون وبعضها ذو تخصص مطلق يتطلب مادة مستقبلة للالكترونات مثل أنزيم G6PD الذي يعمل على تحويل المركب جلوكوز -6- فوسفات الى حامض لاكتون مفسفر وتنتقل الالكترونات الناتجة الى

المركب $NADP^+$ يتحول الى $NADPH_2$. بعض الانزيمات ذات أتجاهين تفاعليين مثل أنزيم اللاكتيت ديهايدروجينيز Lactate dehydrogenase الذي يحول اللاكتيت الى بروفات أو بالعكس بينما تعمل أنزيمات أخرى على تحفيز سلسلة في التفاعلات التي تشترك موادها المتفاعلة في مجموعة متطابقة . فمثلاً يستطيع أنزيم الفا جلوكوسايدز Alpha glucosidas . تحليل عدة أنواع من الجلوكوسيدات الفا تصنف الانزيمات الى عوامل تبعاً لتشابه موادها التفاعلية مثل عائلة أنزيمات البروتينيز Proteinases وعائلة أنزيمات الاستره Estrases والكاربوهيدريزز Car-bohydrases والفوسفاتيزز Phosphatases وغيرها . كما صنفت الانزيمات الى ستة مجاميع أستناداً للمؤتمر العالمي للانزيمات الكيميائية المنعقد في العام 1964 وهي :

أنزيمات الاكسدة والاختزال Oxidoreductases

الانزيمات المرافقه Transferases

أنزيمات التحليل المائي Hydrolases

أنزيمات اللاييز Lyases

أنزيمات الايزوميريز Isomerases

أنزيمات اللحام Ligases

وبسبب أكتشاف مجاميع أخرى من الانزيمات فقد أضيفت الى هذه القائمة مجاميع أخرى .

الاحماض النووية :

اكتشفت الاحماض النووية منذ فترة طويلة ترجع الى نهايات القرن الثامن عشر (1871) الا انها لم تجلب الانتباه الى أهميتها بسبب قلة المعلومات المتوفرة آنذاك عن تركيبها الكيميائي وكذلك بسبب تخلف الطرق والاجهزة العلمية المستخدمة .

وفي عام 1924 نشر العالم فولجين طريقة صباغة سميت بأسمه أستطاع من

خلالها تحديد موقع الحامض النووي DNA في نوى الخلايا . تعتمد طريقة صباغة فولجين على نوع من الاصباغ الكيميائية التي لها قابلية على التفاعل مع السكريات الموجودة في الحامض النووي DNA مكونه مركبات حمراء اللون .

لقد ظهرت هذه المركبات فوق الصبغيات أو الكروموسومات مما أثبت أن الـ DNA يقع في الكروموسومات الموجودة في نوى الخلايا .

لقد أثبتت الدراسات التي أجريت لاحقاً وجود كميات من الاحماض النووية موجودة في السايتوبلازم والنوية والمايتوكوندريا والبلازميدات والبلاستيدات إضافة لتلك الموجودة في النوى .

كما تأكدت الاهمية الكبيرة للاحماض النووية في الوراثة وبناء البروتينات بعد التجارب التي أجريت على العديد من الكائنات مثل تجارب جرفثس على مكورات ذات الرئة عام 1928 وتجارب أفيري وجماعته عام 1944 على نفس المكورات وتجارب هيرشي وشاس عام 1952 على العاثي T_2 الموسم بالنظائر المشعة .

تركيب الاحماض النووية :

الاحماض النووية هي سلسلة من عديد الوحدات (بوليمرات) مشابهة لما هو الحال في البروتينات إلا أنها تختلف عنها في الصفات والوظائف . تتألف سلسلة عديد الوحدات في الحامض النووي من نيوكليوتيدات متكررة تنتظم بطريقة معينة مؤلفة زوج من السلاسل التي تلتف على بعضها بطريقة منظمة خاصة في الحامض النووي DNA بينما يتألف الحامض النووي RNA من سلسلة مفردة من هذه الوحدات .

لقد تبين من خلال التحليل الكيميائي للاحماض النووية بأن النيوكليوتيد مؤلف من سكر خماسي وقاعدة نايتروجينية ومجموعة فوسفات (شكل 2 - 8) . لقد بينت هذه التحاليل بأن نيوكليوتيدات الحامض النووي DNA مؤلفة من سكر خماسي منقوص الاوكسجين مقارنة مع سكر خماسي ذو مجموعتي هيدروكسيل

في الحامض النووي RNA . كما تبين بأن نيوكليوتيدات الحامض النووي RNA لا تحتوي على قاعدة الثايمين المتوفرة في نيوكليوتيدات الحامض النووي DNA بــل تستبدل هذه باليوراسيل .

لقد أتاحت الدراسات الكيميائية على الاحماض النووية معرفة الكثير من المعلومات عنها منها أن نسبة القواعد النتروجينية في الاحماض النووية مختلفة وأنها تختلف من حامض نووي لنوع معين في الاحياء الى آخر .

لقد أظهرت النتائج السابقة أيضاً بأن هناك خمسة من أنواع القواعد النتروجينية هي الثايمين والسايتوسين واليوراسيل والادنين والجوانين وأن هذه القواعد تقع في مجموعتين كيمياويتين هما البايرميدنيات المؤلفة من الثايمين والسايتوسين واليوراسيل والبيورينات المؤلفة من الادنين والجوانين (شكل 2 - 9) .

ترتبط النيوكليوتيدات المؤلفة لسلاسل الاحماض النووية بطريقة معينة بحيث ترتبط المجموعة الفوسفورية الواقعة في النهاية الخامسة لنيوكليوتيد مع ذرة الكاربون الثالثة لسكر النيوكليوتيد التالي . (شكل 2 - 10) . تدعى هذه الروابط الفسفور ثنائي الاستر وهي تمثل العمود الفقري لسلاسل عديد النيوكليوتيدات المؤلفة للحامض النووي .

شكل 2 - 8 : تركيب النيوكليوتيد في الاحماض النووية .

شكل 2 - 9 :
القواعد النيتروجينية في الاحماض النووية .

CH_3 — H — NH — NH — O

ثايمين — ادنين

جوانين — سايتوسين

سايتوسين **الجوانين**

قواعد البايرنيدين **قواعد البيورين**

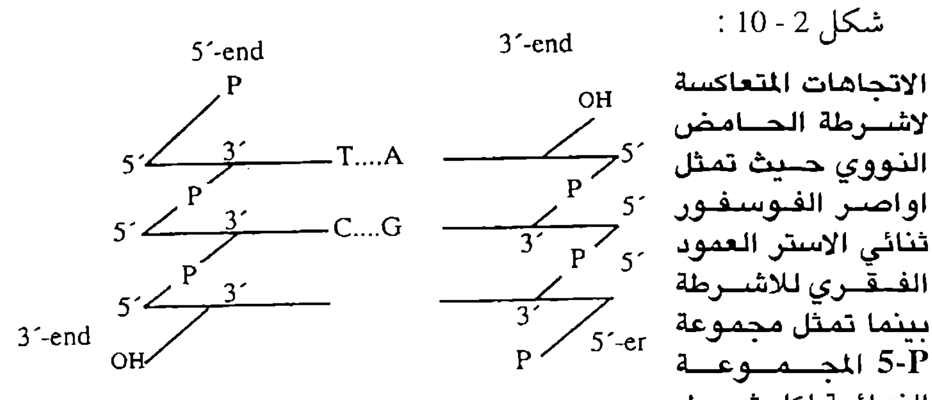
أن أتجاهات أرتباط مجموعة الفوسفات لذرة الكاربون الخامسة لسكر نيوكليوتيد مع ذرة الكاربون الثالثة لسكر النيوكليوتيد التالي تستمر على طول السلسلة
5´ ← 3 ، 5 ← 3´ مما يولد قطبية معينة ذات أهمية في التضاعف والوظائف الوراثية . ونتيجة لذلك فأن كل سلسلة من سلاسل الحامض النووي تنتهي بمجموعة فوسفوريل في النهاية الخامسة ومجموعة هيدروكسيل في النهاية الثالثة .

تترتب نهايات شريطي الحامض النووي بأتجاهات متعاكسة (في الحامض النووي DNA) حيث يبدأ الشريط الاول بالنهاية الخامسة لينتهي بالنهاية الثالثة بينما يبدأ الشريط الثاني بنهايته المجاورة لبداية الشريط الاول بالنهاية الثالثة لينتهي بالنهاية الخامسة وهو ما يطلق عليه بالتوازي المتضاد .

ولا يمكن مشاهدة التوازي المتضاد في الحامض النووي RNA لانه يتألف من شريط مفرد فقط .

شكل 2 - 10 :

الاتجاهات المتعاكسة لاشـــرطة الحـــامض النووي حـــيث تمثل اواصــر الفـوسفـور ثنائي الاستر العمود الفـقـــري للاشـــرطة بينما تمثل مجموعة 5-P المجـــمـــوعـــة النهائية لكل شريط،



التركيز المولاري للقواعد النتروجية في الحامض النووي :

أثبتت نتائج العالم تشارجاف عام 1949 التي أستخدم فيها الترحيل الورقي (الكروماتوغرافي) وتحليل البوليمرات والتحليل المائي للاحماض النوويه بأن التركيز المولاري للقواعد والذي يعبر عنه بالقوسين [ ] يمتلك ثلاث صفات هي :

1.أن تركيز قواعد البيورينات مساوي لقواعد البيرميدنيات .

$$[G] + [A] = [T] + [C]$$

2.أن تركيز الادنين والثايمين متساوي وكذلك تركيز الجوانين والسايتوسين .

$$[G] = [C]$$

$$[T] = [A]$$

ويمكن التعبير عن تركيب القواعد بالمعادلة التالية :

$$\frac{[G] + [C]}{[G] + [C] + [T] + [A]} = G\ ,\ C\%$$

وتعتبر هذه النسبة ثابتة في أفراد النوع الواحد ولكنها تختلف بين الانواع .

إن التساوي في نسب البيورينات والبيروميدينات لا يكون مضبوطاً تماماً بسبب عدم دقة الاجهزة مما يوجد فروقاً بسيطة في هذه النسب . وتظهر هذه النسب تقارباً في الانواع المتشابهة والانواع ذات العلاقات التطورية المتقاربة .

ثبات الاحماض النووية في الخلايا :

تعتبر جزيئات الاحماض النووية ثابتة خلويا ويعود ذلك لوجود عدد من الروابط الكيميائية التي تحافظ على تركيبها متماسكاً وهذه الروابط هي :

1. روابط الفسفور ثنائي الاستر التي تظهر بين مجموعة الفوسفات لذرة الكاربون الخامسة لسكر نيوكليوتيد مع ذرة الكاربون الثالثة لسكر النيوكليوتيد التالي . هذه الروابط هي روابط مكافئة تمثل كما قلنا العمود الفقري لسلاسل وتساعدها على مقاومة الاضرار المحتملة .

2. الروابط الهيدروجينية بين القواعد النتروجينية في الحامض النووي DNA وهي روابط كثيرة جداً ويحتاج الامر لتحطيمها الى استعمال درجات حرارة عاليه تصل الى 100 مْ تقريباً .

3. وجود روابط أخرى لمكونات النيوكليوتيدات مع المركبات الموجودة في الوسط الخلوي لزيادة ثبوتيه الشكل الجزئي للحامض النووي .

الحلزون المزدوج للحامض النووي DNA :

وضع نموذج الحلزون المزدوج للحامض النووي DNA في العام 1953 من قبل العالمان واطسن وكريك حيث أفترضا نموذج مجسم قاموا ببناءه بأن الحامض النووي DNA مؤلف من شريطين يلتفان على بعضهما بطريقة حلزونية معينة بحيث ترتبط القواعد النتروجينية للشريطين داخليا (شكل 2 - 11) .

أستند نموذج الحلزون المزدوج الذي وضعه هاذان العالمان الى العديد من النتائج العلمية التي نشرها عدد من الباحثين قبلهما كما هو الحال في نتائج التركيز المولاري للاحماض النووية التي نشرها العالم تشارجاف والذي بين من خلالها قيمة نسب القواعد النتروجينية الى بعضها كما ذكرنا ذلك سابقاً .

وكذلك نتائج تجارب فرانكلين وروزيلند حول التركيب الجزئي لبلورة DNA بأستخدام أشعة إكس والتي تبين من خلالها بأن هناك تنظيماً دقيقاً في الجزيئة وأنها مؤلفة من شريطين حلزونية أو اكثر وأن التفافها نحو اليمين .

لقد وجدا من هذه النتائج بأن أبسط نموذج يمكن أن يبنى من سلاسل عديد النيوكليوتيدات هو أن ترتبط سلسلتان مع بعضها بحيث تكون روابط الفسفور ثنائي الاستر التي تربط النيوكليوتيدات نحو الخارج بينما ترتبط القواعد من الداخل بحيث يرتبط الادنين مع الثايمين والجوانين مع السايتوسين . وبنهاية البناء وجدا بأن الحلزون المزدوج يلتف نحو اليمين .

بين نموذجهما الجديد بأن قطر الحلزون الذي يفي بأرتباط أزواج القواعد النتروجينية من خلال فراغ السلاسل هو 120 أنكستروم (2 نانومتر) وأن كل شريط فيه يلتوي من الجهة اليمنى كل 34 أنكستروم بحيث تشغل القواعد النتروجينية مسافة 3,4 أنكستروم بين كل زوج وآخر على طول الشريط بحيث تتقابل عشرة أزواج من القواعد مع بعضها قبل كل أستداره .

لقد بينت التجارب التي أجريت بعد ذلك لاثبات حقيقه هذا المزدوج بأن النموذج صحيح ويمثل في معظم الاحياء . كما وجد بأن هناك نماذج DNA نادرة يسارية الالتفاف وأشكال نادره أخرى .

كما وجدت أبحاث أخرى وجود الـ DNA على هيئة شريط مفرد في بعض الفايروسات الا ان ذلك لا يمثل شذوذا عن النظام العام للتركيب كما تبين لاحقاً .

وفر النموذج الجديد صفات مهمة للحامض النووي DNA منها أستقراريته

بعدم أندثاره وقدرته على التضاعف حيث يخدم كل شريط من أشرطة الـ DNA بعد أنفصاله كقالب لبناء شريط جديد . بحيث أن الاجيال الجديدة من الخلايا تحصل في حامضها النووي على شريط أبوي وآخر جديد وهو ما يدعى بالتضاعف شبه المحافظ (شكل 2 - 12) . كما وفر النموذج الجديد للحامض النووي سعة مطابقة تماماً للاحتياجات الوراثية اللازمة للتباين حيث يمكن من خلال وجود أربعة أنواع من النيوكليوتيدات بناء الالاف من المورثات فإذا أفترضنا بأن معدل حجم المورث هو 500 زوج قاعدي فأن عدد المورثات التي يمكن الحصول عليها هو 4^{500} .

ويوفر النموذج أيضا الفرصة لحصول الطفرات الوراثية من خلال أستبدال القواعد النتروجينية بطريق الخطأ وغير ذلك .

الحامض النووي DNA خارج النواة :

كما أسلفنا فإنه وجد بأن هناك جزيئات حامض نووي DNA تقع في عضيات سايتوبلازمية تسبح في السايتوبلازم وتمثل هذه الجزيئات مجينات خاصه بهذه العضيات مثل المايتوكوندريا والبلاستيدات والبلازميدات البكتيرية .

تحمل جزيئات الحامض النووي DNA هذه عدة مورثات تتروح ما بين 5 - 100 مورث وتتركب من نفس مكونات الحامض النووي الموجود في النوى وتتضاعف ذاتياً وتنتقل بأنقسام الخلايا الى الاجيال الجديدة الناتجة .

كما تشفر المورثات المحولة على هذه الجزيئات مجموعة من البروتينات بعضها يخدم وظيفة العضيات والاخر له أهمية في تضاعفها بينما يكون لبعضها أهمية طبيعية وصناعية .

فالحامض النووي DNA المايتوكونديري يشفر لعدد من الانزيمات التنفسية اللازمة لاطلاق الطاقة بينما تشفر بروتينات مقاومة المضادات الحياتية التي تظهر في البكتيريا من قبل DNA البلازميدات وبروتينات التمثيل الضوئي من قبل DNA البلاستيدات .

الاحماض النووية الريبوزيه RNA :

تمثل هذه الاحماض 10% من الاحماض النووية في الخلايا وهي مؤلفة من شريط مفرد . تبنى هذه الاحماض من قالب حامض نووي DNA بعملية تدعى بالاستنساخ تنفصل بعد ذلك عن القالب . لقد وجد من خلال دراسة الاحماض النووية بأن هناك جزيئات عدة من الحامض النووي RNA تختلف قليلاً في التركيب لكنها ذات وظائف مختلفة . فجزيئة الحامض النووي الريبوسومي rRNA مؤلفة من عدة ألاف من النيوكليوتيدات مقارنة مع 70 - 80 نيوكليوتيد في الحامض النووي الناقل tRNA بينما يختلف طول الحامض النووي المرسال mRNA الا أنه مع ذلك أصغر من جزيئة الحامض النووي الريبوسومي . وعلى الرغم أن جميع جزيئات الحامض النووي الريبوزي RNA ذات نهاية مذيلة بعديد الادنين وقبعه جوانسين الا أنها تختلف وظيفياً .

فالحامض النووي المرسال مؤلف من ترددات ثلاثية من القواعد النتروجينية التي تمثل الشفرات الوراثية المحمولة في المورثات والتي يتم ترجمتها داخل الريبوسومات لأنتاج البروتينات بينما يساهم الحامض النووي الريبوسومي في بناء الريبوسومات وتقوم بنقل الاحماض الامينية اللازمة لبناء البروتين جزيئات الحامض النووي الناقل .

وعلى ذلك فإن الاحماض النووية الريبوزيه ذات أهمية كبيرة في عمليات الترجمة التي تؤدي الى انتاج البروتينات .

وعلاوة على ذلك فأنه وجد بأن بعض الفايروسات تخلو من الـ DNA بينما تمثل مادتها الوراثية في جزيئة واحدة أو جزيئتان من الحامض النووي الريبوزي RNA .

الفصل الثالث

الاجهزه والطرق المستخدمه في دراسة الخلية

Instruments and Methods Used In Cytology.

مقـــــدمة :

لقد ظهر وتطور علم الخلية نتيجة لتطور فروع أخرى من العلوم وخصوصاً الكيمياء والفيزياء البصرية .فقد ساهم علم الفيزياء البصرية في تطوير المجاهر وأصبح لدينا الان بفضل هذا التطور أنواع مختلفة من المجاهر وصلت قوة تكبير بعضها الى حد أشبه بالخيال .لقد وفرت هذه المجاهر صوراً لمكونات الخلية بغاية الدقة والوضوح ساهمت كثيراً في مساعدتنا على فهم تركيب ووظائف هذه المكونات .وأضافة للفيزياء البصرية فأن علم الكيمياء وخصوصاً الكيمياء العضويه والتحليليه والحياتية ساعدت على معرفة التركيب الكيميائي الدقيق لمؤلفات التراكيب الخلوية .كما ساهمت كثيراً في الكشف عن وظائفها وأهميتها البايولوجية .ويعود الفضل في معرفة نسب المواد العضوية وتفاصيل ترتيبها وأهميتها البايولوجية في الخلايا وكذلك تحديد دورة العناصر في الخليه وفهم الانقسامات ودور الكروموسومات وغيرها الى علم الكيمياء .ولولا هذا الترابط بين علم الخلية وهذه العلوم وغيرها لما تقدمت المعرفة لتصل الى ماوصلت اليه الان .

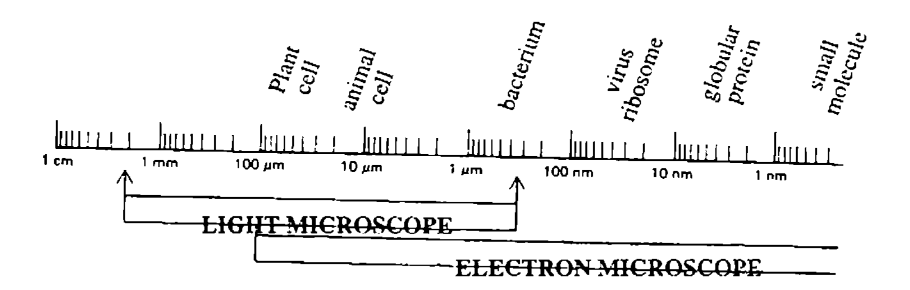
الجـــاهر Microscopes :

أن العين البشرية لا تمتلك كفاءة كبيره في رؤية الاشياء الدقيقة وهناك من العيون الحيوانية ما هو أفضل وأقوى بكثير منها .

أن حدود رؤية الاجسام بالنسبة للعين البشرية محدود جداً حتى أننا لا نستطيع رؤية الكثير من الاشياء التي نعرف بوجودها وتقع أغلب أحجام الخلايا خارج قدرة بصرنا على مشاهدتها .كما أننا لا نستطيع تمييز جسمين منفصلين عن بعضهما بمسافة أقل من 5.1 ملليميتر (100 مايكروميتر) ونراهما على أنهما جسماً واحداً (شكل 3 _ 1) .

لذلك فأنه أصبح من الضروري وجود المعدات اللازمة لمساعدة العين في رؤية الاشياء الدقيقه . ويعتبر ظهور الجاهر ثورة لانها سمحت لنا في رؤية عالم لم نستطع أن نراه سابقاً . ويتوفر لدى الباحثين الان عدة أنواع من الجاهر منها ما هو بسيط ومنها ماهو معقد جداً حتى أننا اليوم نستطيع من خلالها تمييز ذرات تفصل بينها مسافات لا تزيد عن 0.2 نانوميتر . تختلف القدرة التمييزية للمجاهر ويعتمد ذلك في جميع الاحوال على الطول الموجي لمصدر الضوء المستخدم في المجهر وعلى النفاذية العددية للعدسات الشيئية وتتناسب القدره التمييزيه للمجهر عكسياً مع الطول الموجي لمصدر الاضاءة حيث تزداد القوة بأستخدام مصادر أضاءة ذات طول موجي أقصر . لذلك فأن القدرة التمييزيه للمجهر الضوئي الاعتيادي تصل الى حوالي 0.2 مايكروميتر(200 نانوميتر) بينما تصل الى 0.1 مايكروميتر عند أستخدام الاشعة فوق البنفسجية .

أن أستخدام مصادر ضوئية بأطوال موجية قصيرة يؤدي الى عدد من المشاكل أهمها عتامة العدسات الزجاجية لذلك فأنه تستخدم أنواع أخرى من العدسات مثل عدسات الكوارتز وغيرها . وفي جميع الاحوال فأن هذه الجاهر تعمل على تكبير الاجسام الى حوالي 500 مره اكثر مما تراه العين البشرية . ويمكن من خلالها مشاهدة النواة والنويه والمايتوكوندريا .



شكل 3 _ 1 : مخطط يوضح أحجام خلايا وجزيئات مختلفه ومدى قدرة المجاهر على تمييزها .

والاجسام المركزية والكروموسومات .ومع ذلك فأن هناك بعض التراكيب الخلويه لا يمكن رؤيتها تحت هذه المجاهر بوضوح كما هو الحال في الريبوسومات .كما لا يمكن معرفة التراكيب الجزيئيه لمعظم مكونات الخلايا .لذلك فأن المجهر الالكتروني الذي يعمل على تكبير الاجسام الى اكثر من 100,000 مرة اكثر مما تراه العين يعتبر مناسباً لدراسة مثل هذه التفاصيل .

أن المبادئ الاساسية لجميع أنواع المجاهر واحده سوى كان مصدر الاضاءة ضوء أو أشعه أو الكترونات .فالنموذج أو العينه تضاء بمصدر الاضاءه وبأستخدام عدسه مكثفة تعمل على تسليط أضاءة متجانسة على النموذج .كما أن جميع المجاهر ذات عدسات شيئيه لتكبير صورة العينة وعدسات عينية تعمل على تكبير صورة النموذج أو العينه المتكونه من العدسات الشيئية وتفحص بالعين أو يتم التقاطها على لوح حساس فوتوغرافي أو شاشة اليكترونية .

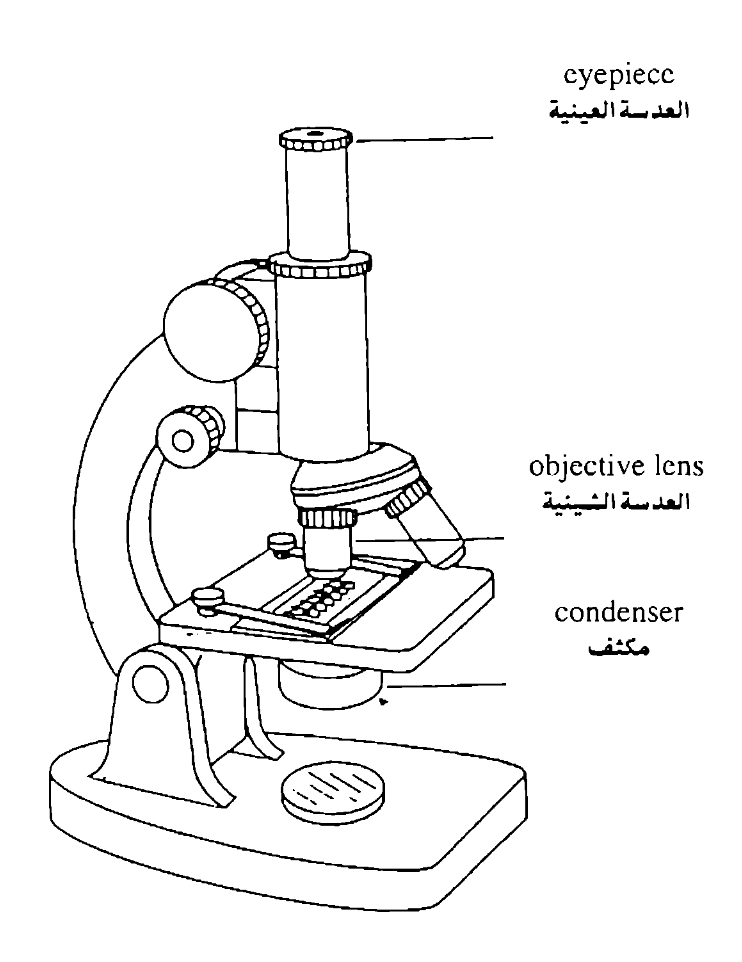
وسنرد هنا أنواع المجاهر التي تستخدم في دراسة الخليه ومكوناتها .

المجهر الضوئي المركب Light Compound Microscope :

يتألف هذا المجهر من أنبوبة تستقر فيها العدسة العينية Ocular وترتبط من

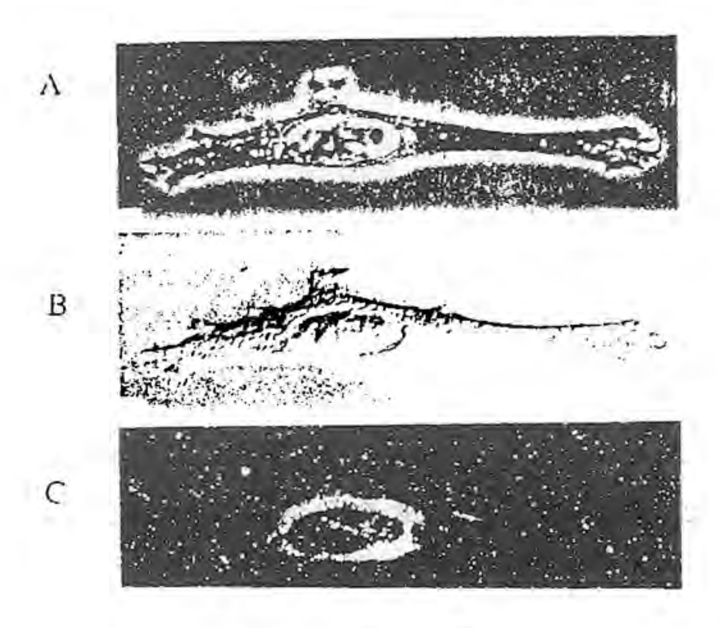
الاسفل مع قرص دائري متحرك يحمل عدداً من العدسات الشيئية Objectives تختلف في قوة تكبيرها وتتراوح بين 2 _ x100 .

يوجد في هذا المجهر مسرح stagc لتثبيت شريحة النماذج ويرتبط هذا مع نوابض تعمل على تنظيم المسافة بين النموذج والعدسات الشيئية .ويضاء النموذج عن طريق مصباح كهربائى يقع أسفل المسرح ويعلوه مكثف يعمل على اسقاط الاشعة الضوئية على هيئه حزمه على العينة (شكل 3 _ 2) .



شكل 3 _ 2 :مخطط للمجهر الضوئي موضحاً عليه أجزاءه الرئيسيه .

لقد تم تطوير هذا الجهر مراراً ونمتلك الان عددا من المجاهر المحوره من المجهر الضوئي منها مجهر الحقل المظلم .Darkfield M الذي يتم فيه اسقاط الاضاءه بشكل مائل على النموذج بحيث تظهر العينه مضيئة ومحاطه بحقل مظلم والمجهر متباين الاطوار Phase contrast الذي يميز أجزاء العينه من خلال الاختلاف في طور الاشعاع المخترق أو المنكسر من أجزاء العينة . يتميز هذا النوع من المجاهر بوجود صفيحة انكسار مركبة للاشعة تقع في العدسة الشيئية لزيادة التباين بحيث تظهر أجزاء العينه متباينة الأضاءة (شكل 3_3) .



شكل 3 _ 3 : صورة لخلية حيوانية مأخوذة بأنواع مختلفة من المجهر الضوئي .A ـ صورة بالمجهر متباين الاطوار B ـ صورة بالمجهر المتباين التفريقي . C ـ صورة بمجهر الحقل المظلم .

كمـا تم تطـوير أنـواع أخرى مـن المجاهـر مثـل مجهـر الاستقطاب Polarization M الذي يعتمـد على الضوء المستقطب مع وجود مناشير لتحليل الاشعاعات المنعكسه من العينه وتوجيهها نحو العدسات الشيئيه والمجهر الفلورسـيني Fluorescence M الذي يعتمـد على أسقاط الاشعه فوق البنفسجيه من الاعلى على العينه وتحليل التألق الطبقي للاجزاء المتألقه من العينـة .

أن الكثير من التفاصيل الدقيقة لمكونات الخليه مثل الريبوسومات وتركيب الاغشية وتركيب العضيات وغيرها لا يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي المركب أو المجاهر المطوره عنه لان هذه الاجزاء تقع خارج قدره هذه المجاهر بسبب صغرها المتناهي .

لذلك فأن المجهر الالكتروني الذي يعمل على تكبير الاشياء الى ما بين 250,000_100,000 مره هو أفضل المجاهر التي تساعدنا في دراسة الاشياء المتناهية الدقة (شكل 3 _ 4) .

المجهر الالكتروني Electronic Microscope :

يتمييز المجهر الالكتروني بقوه تمييزيه عاليه جداً تصل الى حوالي 0.002 نانوميتر نتيجة لأستخدام مصدر أضاءة يعتمد على الالكترونات التي لها طول موجي قصير جداً (0.004 نانوميتر) .

يترتب المجهر الالكتروني بطريقه معاكسة لترتيب أجزاء المجهر الضوئي حيث يكون مصدر الأضاءة فيه الى الاعلى تليها العدسات وقد يقع موضع النموذج بين العدسات كما هو الحال في المجهر الالكتروني النفاذ Transmission E . M. أو في الاسفل كما هو الحال في المجهر الالكتروني الماسح Scanning E . M. .

يتألف مصدر الاضاءة في المجهر الالكتروني أما من خيط تنكستن أو قطب سالب (كاثود)مرتبط بمصدر فائق للفولتيه تصل الى حوالي 100 كيلو فولت (100,000 فولت) .يعمل التيار الكهربائي العالي على تهيج مصدر الأضاءة بشده كبيره مما يؤدي الى قذف سيل مستمر من الالكترونات يمر عبر أسطوانه عمودية يبلغ طولها حوالي 2 متر تترتب فيها العدسات أضافة لأجزاء أخرى .أن الطول الموجي للالكترونات قصير جداً لذلك فأنها لا تستطيع قطع مسافات طويلة خصوصاً بوجود الهواء .لهذا فأنه يتم تفريغ الأسطوانه العمودية من الهواء للسماح للالكترونات بالهجره بحرية دون الاصطدام بجزيئات الهواء .ولأجل زيادة تسريع الالكترونات عبر الاسطوانه فأنه يوضع قطب موجب داخل الاسطوانه ذو فتحه دقيقه تسمح لسيل الالكترونات بالنفاذ نحو الاسفل بأتجاه العدسات الكهرومغناطيسيةمصطدماً أو مخترقاً العينة .

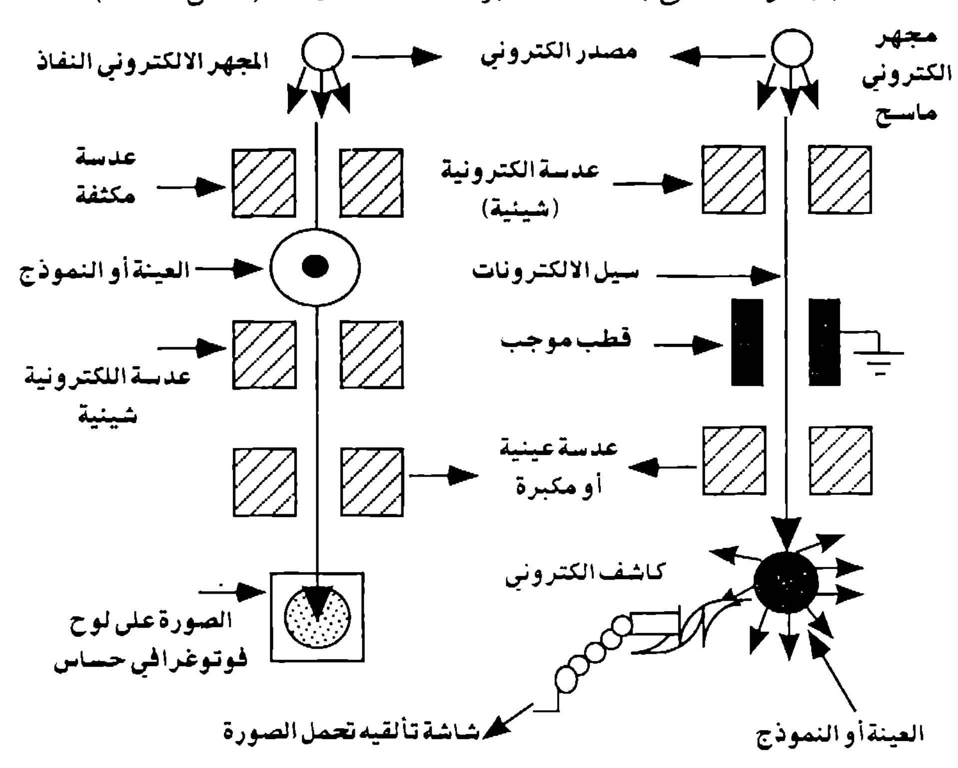
شكل 3 _ 4 : صورة للمجهر الالكتروني .

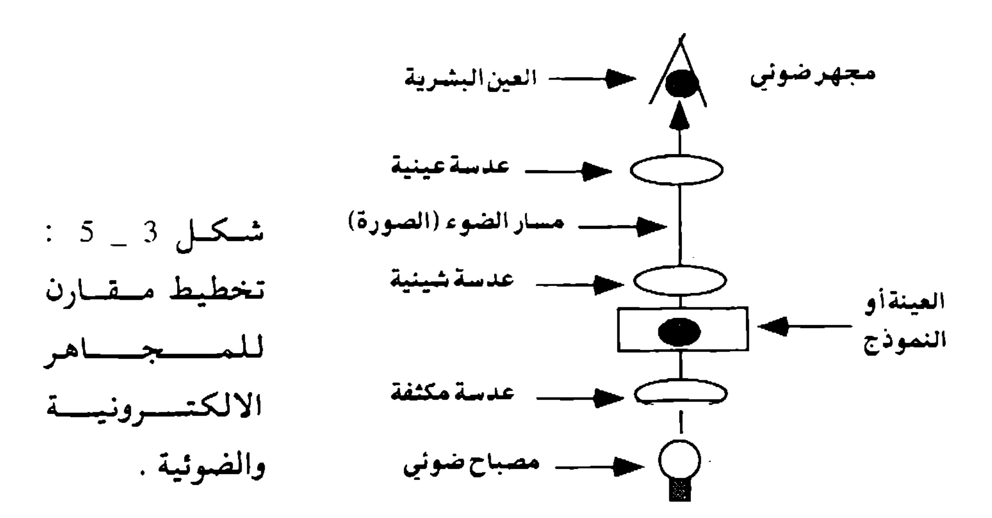
أن العدسات المستخدمة في المجهر الالكتروني هي ليست عدسات زجاجيه أو مصنوعه من الكوارتز بل أنها ملفات كهربائية ذات صفيحه مثقبه من المعدن ويتم تنظيم العدسات بواسطة ضابط خاص بذلك .

ترتبط الملفات الكهربائيه (العدسةالالكترونيه)بتيار كهربائي وعندما يسري التيار فأنه يتولد مجال مغناطيسي يكون عمودياً على مسار سيل الالكترونات المار عبر ثقب العدسة الالكترونيه . وعن طريق تنظيم ضابط العدسه فأنه يتم تكوين صوره مكبره للعينه تمرر الى العدسه العينية في الاسفل لتقوم بزيادة تكبيرها

وأسقاطها على لوح فوتوغرافي أو شاشة متألقة .

ويذكر بأن للمجاهر الالكترونيه عادة عدستان شيئيتان لزيادة قوة التكبير أضافة للعدسه العينية أو ما تدعى بالعدسه المكبره Projector Lens (شكل 3 _ 5)





شكل 3 _ 5 : تخطيط مقارن للمجاهر الالكترونية والضوئية .

يتم تنظيم وضوح الصوره فـي المجهر الالكتروني عـن طريـق ضبط العدسـة عينيـه (وهـي العدسـه المتحركـه الوحيده فـي المجهر الالكتروني) أضافـة لضبط بعد البؤري للعدسـات الشيئيـة الالكترونيـه الثابتـه .

يُنظم البعد البؤري للعدسـه العينية للمجهر الالكتروني عـن طريـق ضابـط خـاص مشـابـه لضابـط العـدسـات فـي المجـهـر الضـوئـي . أمـا تنظيـم البـعـد بؤري للعـدسـات الشـيـئـيـه الالـكـترونيـه فيـتـم عـن طريـق تغـيـير قـوة التـيـار كهربائي المار في ملفات العدسات .

ونظراً لصعوبـة ضبـط هـذه العـدسـات فـأنـه يرتبط مـع المجـهـر الالكـترونـي مجـهـر ذو عـدسـتـين عـينيـة يتـم مـن خـلالـه تبئير العدسات بشكل دقـيق عن طريق مشاهده الصوره على الشاشـه المتألقـة للمجهـر الالكترونـي .

تنشـأ الصـوره فـي المجـهـر الالكـترونـي نتـيجـة لتـبـعـثـر الالكـترونـات بعـد أصطدامـها بجزيئـات العينـه . فـأذا كـانت جزيئـات موقـع معين من العينـه ذات كثافـة عاليـه فأن الالكترونات المصطدمه بها ستتشتت بقـوه بحيث لا تمر خلال فتحـه العدسـه ونتيجة لفقدان هـذه الالكترونات فأن هـذا الموقـع يظهر داكنا على الشـاشـة المتألقـه . أمـا الاجزاء الشفافـة أو الاقل كثافـة فـي العينـه فأنها تشتت الالكترونات بطريقـة مرنـه تسمح بمرورهـا عبر العدسـه مما يشكل لهـا موقعـاً فاتحـاً علـى الشـاشـة . ويمكن زيـادة التـبـاين فـي الصـوره النـاتجـه عـن طريـق مـعـاملـة العينـه بأملاح المعادن الثقيلـه (الاصباغ الالكترونيـه) .

الفروق بين المجهر الضوئي والمجهر الالكتروني :

هنـاك عـدة فـروق بين هـذيـن النوعين مـن المجـاهر وسنتطرق هنا أهـم الاختلافـات الجوهريـه بينهمـا وهـي :

أولاً : مصـدر الاضـاءه فـي المجـهـر الضـوئـي هـو الضـوء الاعـتـيـادي لـذلـك

فأن قوته التمييزيه منخفضه ولا نستطيع رؤية الاشياء التي يقل حجمها عن 100 نانومتر كالفايروسات والاجزاء الدقيقه لمكونات الخلايا بينما يعتمد المجهر الالكتروني على مصدر أضاءة الكتروني (بندقية الألكترون Elcctron gun) يعمل على قذف سيل من الالكترونات بعد أمرار تيار كهربائي فيه عالي الفولتية .ونظراً لكون الطول الموجي للالكترونات قصير جداً لذلك فأن القدره التمييزيه للمجهر الالكتروني تكون عالية بحيث نتمكن من تمييز الاجزاء الدقيقه التي يزيد حجمها قليلاً عن واحد مايكرون .

ثانياً : يتم تكبير صورة العينية في المجهر الضوئي عن طريق عدسات زجاجيه أو كوارتزيه بينما تستخدم العدسات الالكترونية المؤلفه من ملف كهربائي وقرص أو أقراص ذات فتحات دقيقه مختلفة الحجم (25 _ 100 مايكروميتر في القطر) مرتبطه مع تيار كهربائي .ونتيجة لكفاءة العدسات الالكترونيه العاليه فأنها قادرة على تكبير صورة العينه الى حوالي 250.000 مرة مقارنة مع 500 مره في عدسات المجهر الضوئي .

ثالثاً : تفحص الصور الناشئه عن المجهر الضوئي بالعين المجردة عن طريق النظر خلال العدسات العينيه العلوية . الا أن العين البشرية ليست حساسة للالكترونات لذلك فأن الصوره المتكونه للنموذج يتم اسقاطها على لوح فوتوغرافي حساس للالكترونات أو شاشه متألقة . يعتمد وضوح الصوره في المجهر الالكتروني على عدد الالكترونات الساقطه على اللوح أو الشاشه في كل موقع من مواقع العينه فيما يعتمد وضوح الصوره في المجهر الضوئي على كثافة الضوء المخترق أو المنكسر عن العينة .

رابعاً : لا يمثل وجود الهواء في أنابيب عدسات المجهر الضوئي أية مشكلة بينما يعمل وجوده على أعاقة حركة الالكترونات في اسطوانه المجهر الالكتروني مما يوجب تفريغها من الهواء أولاً قبل فحص العينة .

تهيئة النماذج البايولوجية للفحص المجهري :

أن هناك الكثير من الصعوبات في رؤية التفاصيل الخلوية للنماذج الحية بسبب شفافيتها . لذلك فأنه عند الحاجة لزيادة كفاءة الفحص المجهري فأنه تستخدم صبغات خاصه . ويتوفر الان في المختبرات أنواع مختلفه من هذه الاصباغ بعضها متخصص في صباغة أجزاء معينه من الخلايا وأخرى عامة .فصبغة الهيماتوكسلين على سبيل المثال تعمل على تصبيغ الاجزاء ذات الشحنات السالبه مثل النواة الغنية بالاحماض النووية السالبة الشحنه كالـ DNA و RNA .

ويتوفر الان العديد من هذه الاصباغ العضوية مثل صبغة الملاكايت الخضراء وصبغة السودان السوداء والكوماسي الازرق .هذا أضافة لدلائل صبغية اكثر تخصصاً مثل الاضداد والمستضدات الموسمه بالمواد المتألقة .

تثبت النماذج البايولوجية عادة قبل الصباغة وذلك لجعلها قابلة للتصبيغ بكفاءة اكبر اضافة لتثبيت النماذج لضمان عدم ضياعها .أن أول الطرق واكثرها شيوعاً في التثبيت هو بتغطيس النماذج في حامض أو محاليل عضوية مثل كحول الايثانول (مدرج من تراكيز مختلفة من 70 _ 95%) .

أما الطريقة الحديثه فتعتمد على تعريض النماذج البايولوجية الى الالدهايدات النشيطة خصوصا الفورمالدهايد والجلوتارالدهايد التي ترتبط مع المجاميع الحره في الاحماض الامينيه للبروتينات بأواصر تساهمية وتعمل من خلالها على ربط الجزيئات المتجاوره مع بعضها .

أن بعض النماذج البايولوجيه هي عينات نسيجية يصعب فحصها بصورتها الاولية لانها سميكه وغير نفاذه للضوء .لذلك فأنه يجري أولاً تقطيع العينه النسيجية الى شرائح رقيقه بأستخدام جهاز المشراح Microtome ذو السكين الحادة . يكون سمك المقاطع النسيجية المناسبة للفحص بالمجهر الضوئي بين 1_10 مايكروميتر بينما تكون المقاطع المناسبه للمجهر الالكتروني رقيقه للغاية .

أن الانسجة وبشكل عام تكون لينه بحيث لا تسمح بقطعها مباشرة بالمشراح .لذلك يتم أولاً طمرها Embedded في شمع سائل ضمن قالب صغير ويترك القالب حتى يتصلب الشمع ليصبح بعد ذلك جاهزاً للقطع .

أن بعض الفحوصات النسيجيه تهدف لمعرفة بعض التفاصيل التي قد لا يمكن الحصول عليها بسبب التثبيت والطمر لذلك فأنه تستخدم طريقة بديلة لا تحتاج الطمر وهي التجميد الفائق Rapid Freezing . يجمد النسيج المطلوب فحصه أولاً ثم يقطع بعد ذلك الى شرائح رقيقة في مشراح خاص Cryostat محفوظ في كابينه مبرده جداً .

أما بالنسبة للنماذج البايولوجيه الخاصه بفحوصات المجاهر الالكترونيه فيتم معاملتها معاملة خاصه تختلف عن تلك المستخدمه في تحضير النماذج للفحص بالمجهر الضوئي . ذلك لان النماذج المفحوصه بالمجهر الالكتروني تخضع لتفريغ عالي . لهذا فقد تم تطوير طرق الطمر والقطع والتصبيغ السابقة لتتناسب مع وظائف المجهر الالكتروني .

تعامل نماذج الانسجة بالجلوتارالدهايد والاوزميوم تتراوكسيد-Osmium te-troxide لأجل تأصرها مع البروتينات والدهون في العضيات وغيرها لتثبيت الاجزاء الخلويه للنسيج في مكانها .يعامل بعد ذلك النسيج مع مادة راتنجيه Monomeric resin بالترشيح لبناء طبقة من البلاستيك الصلب حول النسيج حيث تسمح هذه المعاملة بتحضير شرائح رقيقه جداً يتراوح سمكها بين 50_100 نانومتر تتمكن من خلالها الالكترونات بالنفوذ . يستخدم لتقطيع نموذج النسيج مشراح خاص بسكين زجاجية أو ماسية حادة مدعومه بمشبك حلقي معدني صغير .

أن تباين النماذج البايولوجيه المفحوصه بالمجهر الالكتروني يكون منخفضاً . تعتمد قوة التباين على العدد الذري للذرات المؤلفة للجزيئات البايولوجيه .وبما أن هذه الجزيئات مؤلفه في الغالب من كاربون وأكسجين وهيدروجين وهي ذرات

منخفضة العدد الذري لهذا يظهر تباين الجزيئات البايولوجية تحت المجهر الالكتروني منخفضاً .

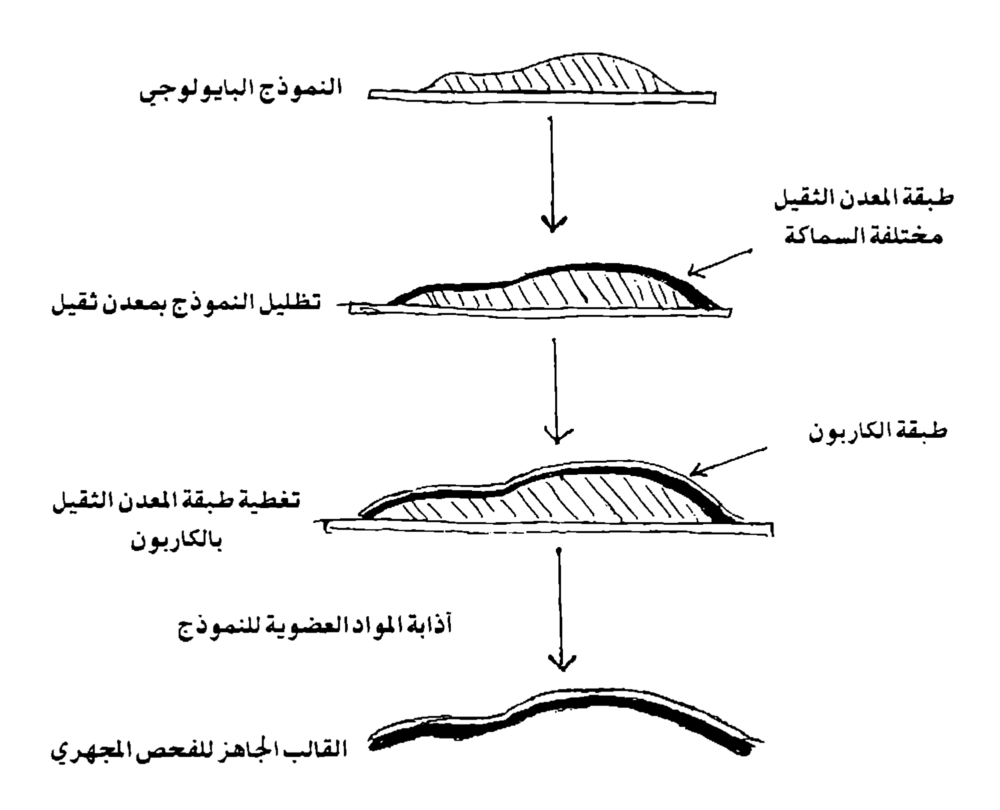
ولأجل زيادة تباين النماذج البايولوجية تعرض المقاطع الرقيقه من النماذج لمعادن ثقيلة مثل اليورانيوم والرصاص (خلات اليورانيوم وسترات الرصاص) حيث تعمل هذه المعادن على تغطية النماذج بطبقة رقيقة تختلف في سماكتها مما يعطي تبايناً مختلفا لاجزاء النماذج .

تتم عملية تغطية المقطع البايولوجي بطبقة المعدن الثقيل (وتعرف بالتظليل Shadowing) عن طريق تبخير طبقة رقيقة من المعدن الثقيل ومن زاوية ليظلل بخار المعدن سطح المقطع الجاف .بعض النماذج البايولوجيه المظلله بالمعدن الثقيل تبقى رقيقه جداً بحيث يتمكن سيل الالكترونات من اختراقها مباشرة كما هو الحال في نماذج الفايروسات والاغشية الخلوية .أما البعض الاخر فيصبح سميكا بعد تظليله بحيث يكون غير نفاذ للالكترونات وفي هذه الحالة يتم اذابة المواد العضويه للنماذج بعد التظليل ليبقى في النهاية قالب Replica لسطح النماذج مؤلف من طبقة رقيقه للغاية من المعدن الثقيل . يقوى القالب بتغليفه بطبقه رقيقه من الكاربون وتنتقل بعد ذلك الى مشبك خاص لغرض فحصها تحت المجهر الالكتروني (أشكال 3 _ 6) .

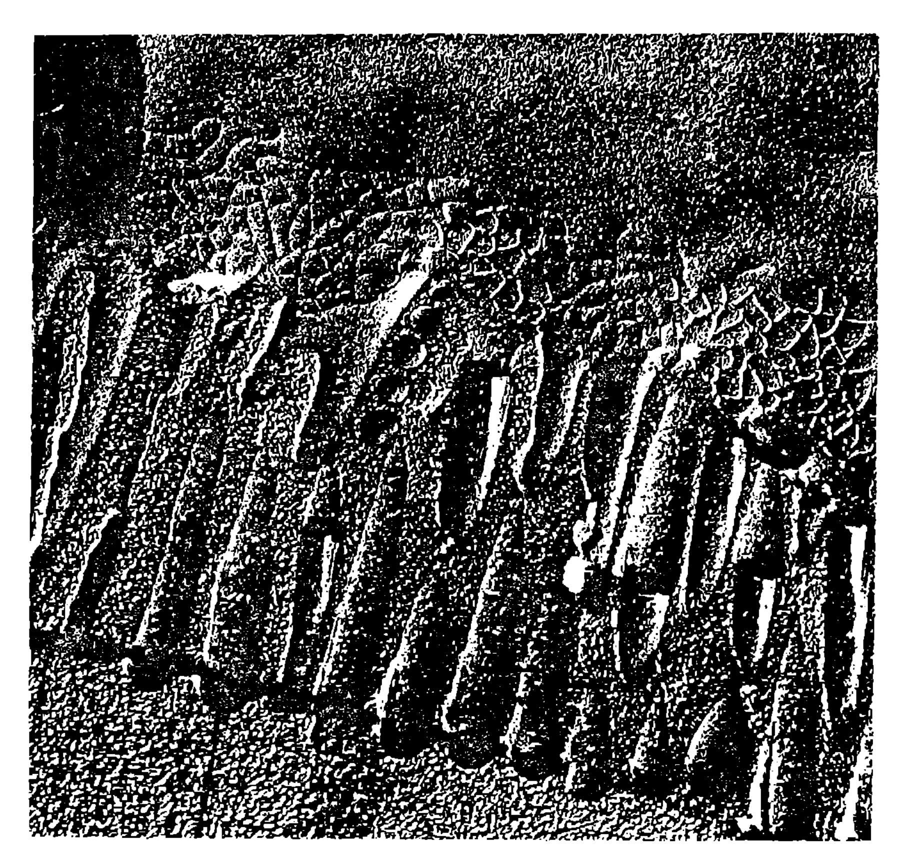
ان عملية تبخير المعدن الثقيل تؤدي الى ترسبه بكثافات مختلفةعلى أجزاء النموذج البايولوجي مما يؤدي الى تكوين ظلال في الصوره المتكونه مما يعطيها أبعاداً ثلاثة (شكل 3 -7) .

أضافة للطريقة السابقة لتحضير المقاطع الخاصه للفحص بالمجهر الالكتروني فأن هناك طرقاً أخرى لعمل القوالب .منها طريقة الكسور الجليدية Freeze fractures التي تستخدم لدراسة الاغشية الداخلية لعضيات الخلية . يتم في هذه الطريقة تجميد الخلايا في النتروجين السائل (196 ـ م °) بوجود مضاد للتجمد مثل مادة الكرايو Cryoprotectant لمنع تكوين حبيبات جليديه داخل الخلايا .

يكسر قالب الجليد بعد ذلك بحافة سكين للحصول على كسور جليديه ملساء تمثل قوالب لأجزاء خلوية .تظلل الكسور الجليـــديه بمعدن ثقيل مثـــل البلاتينيوم ثم يتم التـخلص من المواد العـضـوية لـيـصبـح القـالـب جـــاهزاً للفـحص المجـهـري (أشكال 3 _ 8 ؛ 9) .



شكل 3 _ 6 : طريقة تحضير قالب المعدن الثقيل (قالب الظل)لنموذج بايولوجي لأجل الفحص بالجهر الالكتروني .



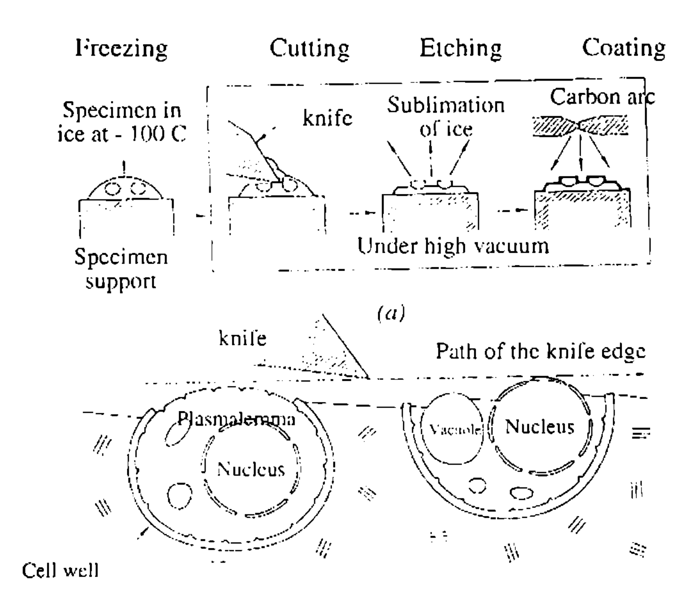
شكل 3 _ 7 : صورة بالمجهر الالكتروني لقالب كسر جليدي Freeze fracture للجدار الداخلي المبطن للاثني عشري ونلاحظ زغابات الخلايا الطلائيه واضحة .

تظليل الكلايش أو القوالب بمعدن ثقيل ثم اذابة المواد العضوية للنموذج وتغطية قالب المعدن بطبقه من الكاربون ونقله الى مشبك دقيق ثم الفحص بالمجهر الالكتروني .

طريقة أخرى لعمل القوالب تدعى بكليشة الجليد Freeze etch . تستخدم لدراسة الاسطح الخارجية للاغشية البلازمية وغيرها تجمد في هذه الطريقة خلايا النموذج بدرجة برودة النتروجين السائل للحصول على قالب جليدي .يكسر القالب بالسكين ثم يتم أذابة الجليد حول جزء من الخلايا عن طريق التبخير الجزئي للماء

تحت قوة التفريغ(Freeze - drying) ثم يبنى قالب من البلاتينيوم لاجزاء الخلايا الظاهره ويغطى القالب بعد ذلك بطبقه من الكاربون ثم يفحص بالجهر .

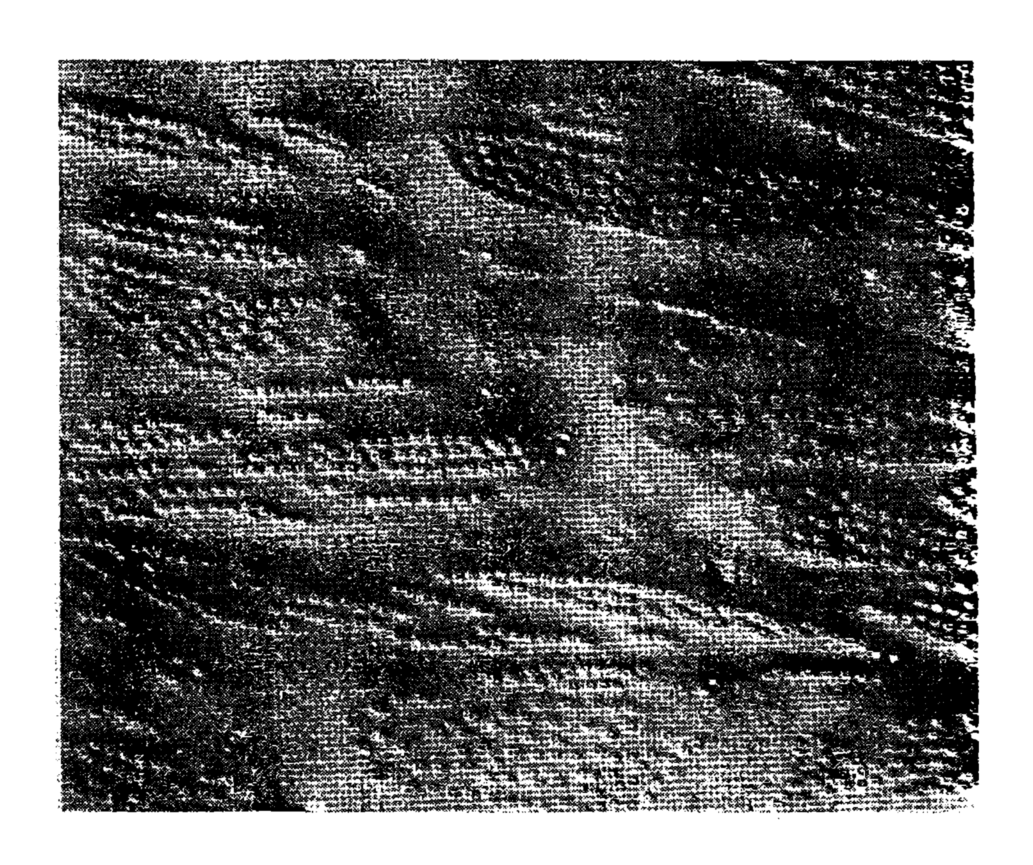
كما توجد طرق أخرى يتم فيها تجميد الخلايا بالهيليوم السائل (269 ـ م°) وبناء قالب نحاس وغير ذلك .



شكل 3 _ 8 : خطوات عمل كليشة الجليد Freeze_etch لتحضير قوالب نماذج الفحص الجهري الالكتروني .

a ـ خطوات العمل .

b ـ جزء مكبر للخلايا المجمده في النموذج .



شكل 3 _ 9 :

صوره بالمجهر الالكتروني لقالب كسور جليديه Freeze fracture replica لجدار وعاء دموي دقيق .

طرق فصل المكونات لخلويه :

أن عمليات الفحص الجهري المختلفة تهدف الى دراسة مورفولوجية الخلية بكل تفاصيلها الظاهره وتحديد موقع العضيات السايتوبلازمية وربما أيضا تحديد جزيئات بروتينيه أو دهنيه أو سكريه في مواقع الخلية . الا أن هذه الفحوصات والدراسات لا تمكننا من معرفة العناصر والمركبات الكيميائية لمكونات الخلية .لذلك فأن مثل هذا الهدف يحتاج الى طرق أخرى مختلفة نستطيع من خلالها فصل أجزاء الخلية عن بعضها وثم تحديد مؤلفاتها الكيميائية .

طرق فصل الخلايا والاجزاء الخلوية :

تتوفر في مختبرات الخليه العديد من الطرق التي يتم خلالها عزل الخلايا وتكسيرها وأطلاق محتوياتها ثم فصلها بعد ذلك .

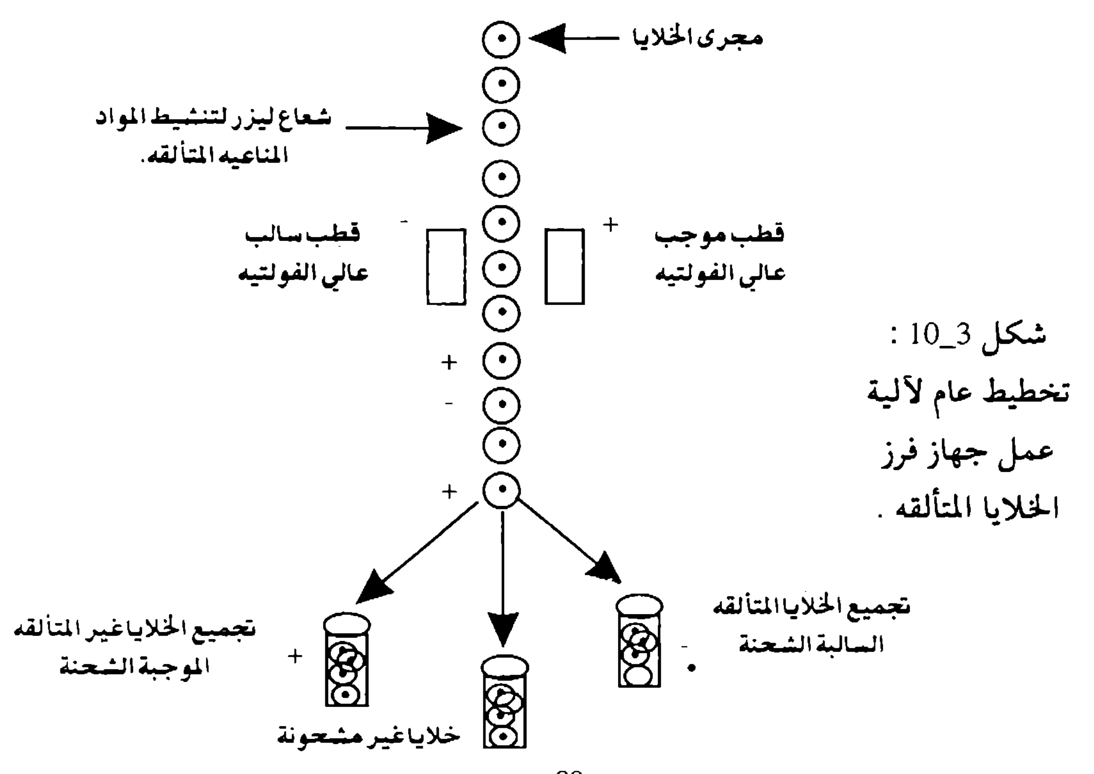
يمكن الحصول على الخلايا لأجل التحليل عن طريق الزراعة النسيجية وتوفر هذه خلايا متجانسه وتعود لنوع واحد من الخلايا .ونظراً لصعوبة تربية جميع أنواع الخلايا لبناء مزارع نسيجية لذلك فأنه يتم الحصول على الخلايا في هذه الحاله عن طريق الانسجة الحيوانيه أو النباتيه .

يؤخذ النسيج المطلوب فصل خلاياه ويقطع الى أجزاء صغيره بوجود محاليل حافظه ملحيه ثم تعامل أجزاء النسيج الصغيره بأنزيمات تعمل على أذابة المواد العضويه والانسجه الرابطه لفصل الخلايا . تعتبر أنزيمات التربسين والكولاجينر بوجود محلول EDTA أفضل الانواع التي تخدم ذلك الهدف وتتحول الانسجه بعد ذلك الى خلايا مفرده يتم تجميعها بالطرد المركزي .

أما البكتيريا فيتم الحصول عليها من المزارع السائل وبكل سهوله دون الحاجة الى معاملات خاصة .

كما يمكن فصل أنواع من الخلايا عن بعضها أعتماداً على حجمها وبالطرد المركزي . تتوفر طرق أخرى لعزل الخلايا وفصلها بأساليب أخرى .فمثلاً يمكن عزل

خلايا معينه من مزيج خلوي باستخدام أضداد موسمة بصبغه فلورسنية .أن معاملة خلايا المزيج بهذه الاضداد سوف يؤدي الى ارتباطها تخصيصا مع مستقبلات متوفره في الخلايا المطلوب عزلها فقط . وبأستخدام جهاز فرز الخلايا الفلورسينيه أو المتألقة Flourescence activated cell sorter تفصل الخلايا المتألقة عن الخلايا الاخرى .يعمل هذا الجهاز على تسليط شعاع من الليزر على مجرى الخلايا داخله لتنشيط الجزيئات الفلورسينيه المرتبطه مع بعض أنواع الخلايا (تمر الخلايا على شعاع الليزر خلية تلو الاخرى) .تمر الخلايا بعد ذلك على أقطاب كهربائيه سالبة وموجبة عالية الفولتية(2000 فولت) حيث تشحن الخلايا المتألقه بشحنة سالبه بينما تشحن الخلايا الاخرى بشحنه موجبه (وقد لا تشحن بعض الخلايا لأسباب غير معروفه) .وتبعاً لشحنة الخلايا فأنه يتم تجميع الخلايا السالبه في أنبوبه خاصه والموجبه في أنبوبة أخرى .كما يتم تجميع كتل الخلايا والخلايا غير المشحونه في أنبوبة ثالثه(شكل3_10) .



شكل 3_10 : تخطيط عام لآلية عمل جهاز فرز الخلايا المتألقه .

تفصل العضيات السايتوبلازمية وأغشية البلازما بعد تحطيم الخلايا . هناك عدة طرق لتحطيم الخلايا وأطلاق مكوناتها منها معاملة الخلايا لفترة بمحلول ملحي مخفف أو ماء مقطر حيث تنفجر الخلايا بعد فتره بسبب تسرب جزيئات الماء بكمية كبيره الى داخل الخلايا عن طريق الانتشار لأختلاف التركيز .كماتستخدم الاهتزازات فوق الصوتيه والضغط والطحن لنفس الغرض .أن لجميع هذه الطرق مساوئ حيث أن بعضها يدمر الاغشيه البلازميه والشبكه الاندوبلازميه وأجسام كولجي وغيرها . لذلك فأنه يجب أختيار الطريقة المناسبة لتحطيم الخلايا دون الاضرار بالعضيات والاجزاء الخلوية .

يستخدم الطرد المركزي في فصل العضيات السايتوبلازميه وغيرها وذلك أعتماداً على الحجم والكثافة .يطرد محلول الخلايا المحطمه مركزياً بقوه طرد 1000g لترسيب النوى وجدران الخلايا .يعاد طرد الرائق مرة أخرى بقوة 20.000g لترسيب المايتوكونديا و اللايسوسومات والبيروكسيمات ثم يطرد الرائق الناتج عن عمليه الطرد الثانيه بقوة 80.000g لترسيب المايكروسومات والحويصلات الخلويه الصغيرة ثم ترسب بقية الاجزاء الصغيره المتبقيه في الرائق الاخير بالطرد المركزي بقوة 150,000g . كما يمكن فصل العضيات وغيرها عن طريق تكوين مدرج يضم كل منها في طبقه معينة وذلك بالطرد المركزي الفائق مع مدرج سكروز أو مع كلوريد السيزيوم .

تترسب مكونات الخلية بشكل منفصل وذلك أعتماداً على معامل ترسيبها Sedimentation coeficient عند طردهما مركزياً بقوة 80.000 دوره في الدقيقة .

كما يمكن ترسيب مواد معينة مثل الـ DNA والـ RNA بنفس الطريقة .تتعرض الجزيئات بهذه الطريقة الى عدة عوامل أثناء الطرد تؤدي في النهاية الى فصلها كطبقات متسلسلة الكثافه والوزن الجزيئي فالجسم المتحرك أثناء الطرد المركزي في نصف دائره نصف قطرها (r) يتعرض لقوة طرد مركزي (Fc) تساوي حاصل ضرب كتلته(-m) في مجال الطرد (w^2r) .ويمكن تمثيل ذلك في المعادلة التالية :

وحيث ان كتلة الجسم المتحرك m^- مساوية لكتلة السائل المزاح m $Fc=m^-w^2r$
والذي يساوي $1_ v^-p$ حيث ان v^- الحجم الجزيئي النوعي للجسم وp هي كثافة المحلول .

يتحرك الجسم في الطرد بسرعة ثابته vعند تساوي قوة الطرد المركزي لمعامل احتكاك الجسم f . لذلك فأن سرعة ترسيب الجسم يساوي :

$$V= \frac{Fc}{f} = \frac{m(1_ v\text{-}p)w^2r}{f}$$

وهذا يعني ان سرعة الترسيب تتناسب تناسب طردياً مع شدة مجال الطرد المركزي . وان الترسيب يعتمد على خواص الجسم والمحلول حيث ان سرعة ترسيب جزئ معين تتناسب مع كتلته وان الجسم الكثيف يتحرك بسرعة اكبر من الجسم الاقل كثافة .

كما أن شكل الجزئ يؤثر على شدة لزوجته في محلول الطرد .فمعامل الاحتكاك لجسم مضغوط أقل من معامل الاحتكاك لجسم اكثر تعقيداً . كما أن سرعة الترسيب تعتمد على كثافة المحلول (P) فتترسب الجزيئات عندما يكون عامل الطفو V^-P أقل من واحد وتعوم اذا كان اكثر من ذلك ولا تتحرك عندما يساوي صفراً .

ويعتبر محلول السكروز 5% و 20% وكلوريد السيزيوم 5.6 مولاري من اكثر المحاليل التي تستخدم لفصل العضيات وأجزاء الخليه وبعض المركبات البروتينيه والنووي عند استخدام الطرد المركزي الفائق .

طرق فصل المركبات الكيميائية :

يعتبر تحليل المركبات المؤلفة للاجزاء الخلوية أحد أهم الاسس التي يعتمدها علم الخلية حيث يتم من خلال هذه الطرق معرفة المركبات الكيميائيه ونسبها التي

تؤلف الاجزاء الخلويه أو غيرها .وتعتبر طرق الفصل بالكروماتوغرافياوالهجره الكهربائيه أفضل الطرق واكثرها انتشاراً لفصل البروتينات والكربوهيدرات .

أستخدمت الكروماتوغرافيا في بادئ الامر لفصل جزيئات السكر الصغيرة الحجم وكذلك الاحماض الامينيه ثم طورت بعد ذلك لتشمل مدى واسع من المواد المعقدة التركيب كالبروتينات وغيرها . وتسمى الان الطربقة التي يتم فيها فصل الجزيئات الصغيره بالكروماتوغرافيا التجزيئية Partition chromatography وهي الاكثر انتشاراً في المختبرات .

تعتمد طريقة الكروماتوغرافياعلى تثبيت نموذج من العينة على نهاية ورق ماص سليلوزي (كروماتوغرافيا ورقية) أو على نهاية طبقه من السيلكا أو السليلوز (كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة) مفروشةعلى لوح زجاجي أو بلاستيكي . بعد جفاف العينة (خليط مركبات) يسمح الخليط من المذيبات بالهجرة عبر الورق أو الطبقه السليكا أو السليلوز .تعمل جزيئات المذيبات أثناء هجرتها على حمل جزيئات مركبات العينه بحيث تنفصل المركبات في النهاية هلى هيئة حزم متتالية .تجفف أوساط الهجره بعد ذلك وتصبغ وتعتمد الصبغة على نوع المركبات المراد فصلها .فيستخدم الننهيدرين Ninhydrin لصباغة الاحماض الامينيه المفصوله ونترات الفضه لصباغة السكريات .كما تستخدم طرق مناعيه وأشعاعيه أيضاً في التعرف على أنواع معينه من المركبات .

كما تستخدم طرق فصل أخرى مثل الفصل بالاعمدة حيث تعبأ الاعمده بأنواع مختلفة من المواد التي ترتبط تخصيصاً مع المركبات .

تعتبر البروتينات والاحماض النووية اكثر أنواع المركبات التي تفصل بهذه الطريقة . يوضع مزيج البروتينات مثلاً في أعلى عمود الفصل ثم يضاف محلول دارئ لمساعدة جزيئات البروتينات بالحركة من خلال حشوة العمود . تعبأ أعمدة الفصل بحشوات مؤلفه من مركبات كيميائية وتختلف هذه حسب نوع عمود الفصل .أن اغلب الحشوات المستخدمة في هذه الاعمدة تؤلف ماده تختلف مساميتها بشكل تدريجي

بحيث تتحرك جزيئات البروتينات خلال هذه الماده أعتماداً على حجمها وعلى ذلك تنفصل جزيئات البروتينات أعتماداً على حجم جزيئاتها بحيث يتكون مدرج من انواع البروتينات يتم تجميعها بشكل منفصل الواحده تلو الاخرى . أضافة لحجم جزيئات البروتينات فأن هناك عوامل أخرى تساعد في عملية الفصل كعدد الشحنات الكهربائية ونوعها الخاص بكل بروتين وكذلك قابليتها على الارتباط كيميائيا مع مكونات الحشوة .

وتستخدم الان أنواع أخرى من طرق الفصل الكيميائيه مثل أعمدة التبادل الايوني وأعمده المرشح الهلامي وغيرها .

تتألف البروتينات من سلاسل عديدببتيد مؤلفه من الاحماض الامينية . تشحن الاحماض الامينية بشحنات كهربائيه سالبه أو موجبه وتعمد شحنة البروتين على مجمل الشحنات الزائده لاحماضه الامينيه . لذلك فالبروتينات أما سالبه او موجبة الشحنة . وأستناداً الى هذا فأنه من الممكن فصل البروتينات أعتماداً على شحناتها بأستخدام طريقة الهجرة الكهربائية عبر هلام . كما يمكن في هذه الطريقة فصل الاحماض النووية السالبة الشحنة .

تعتمد طريقة الهجره الكهربائية على فصل الجزيئات المشحونة أعتماداً على شحنة الجزيئات وقطبية المحلول المستخدم كوسط في الهجره .

أن سرعة هجرة جزيئات النموذج (V) في مجال كهربائي يعتمد على قوة المجال الكهربائي (E) وكذلك على صافي الشحنه الكهربائيه(Z) ومعامل الاحتكاك (f) الناشئ عن وجود الهلام . ويمكن تمثيل ذلك بالمعادلة التالية :

$$V = \frac{EZ}{F}$$

تستخدم عدة أوساط في الهجرة الرئيسيه أهمها الاجاروز وهلام بولي اكرليمايد والنشا .تختلف هذه الاوساط في درجة مساميتها ومكوناتها ويمكن تحضير نسب

مختلفة منها حسب الحاجة ولكن غالباً يستخدم هلام الاجاروز لفصل جزيئات الاحماض النوويه بينما يستخدم هلام البولي اكرليمايد والنشا في فصل البروتينات . أن جزيئات البروتين اكثر تعقيداً من الاحماض النوويه حيث تتألف البروتينات من أعداد مختلفه من سلاسل عديدالببتيد التي تلتف على بعضها بطريقة معقده عن طريق تكوين أواصر كبريتية بينها .لذلك فأن تهجيرها عبر الهلام سيكون صعباً جداً وهو ما يتطلب تحوير طريقة تحضير وسط الهجره .ويستخدم الان هلام البولي اكرليمايد المقوى بمركب Sodium dedecyl sulphate (SDS) الذي يعمل على فك طيات البروتين وكذلك المركب ميركابتوأيثانول Mercaptoethanol الذي يكسر أواصر الكبريت لأطلاق سلاسل عديدالببتيد المؤلفه للبروتين .

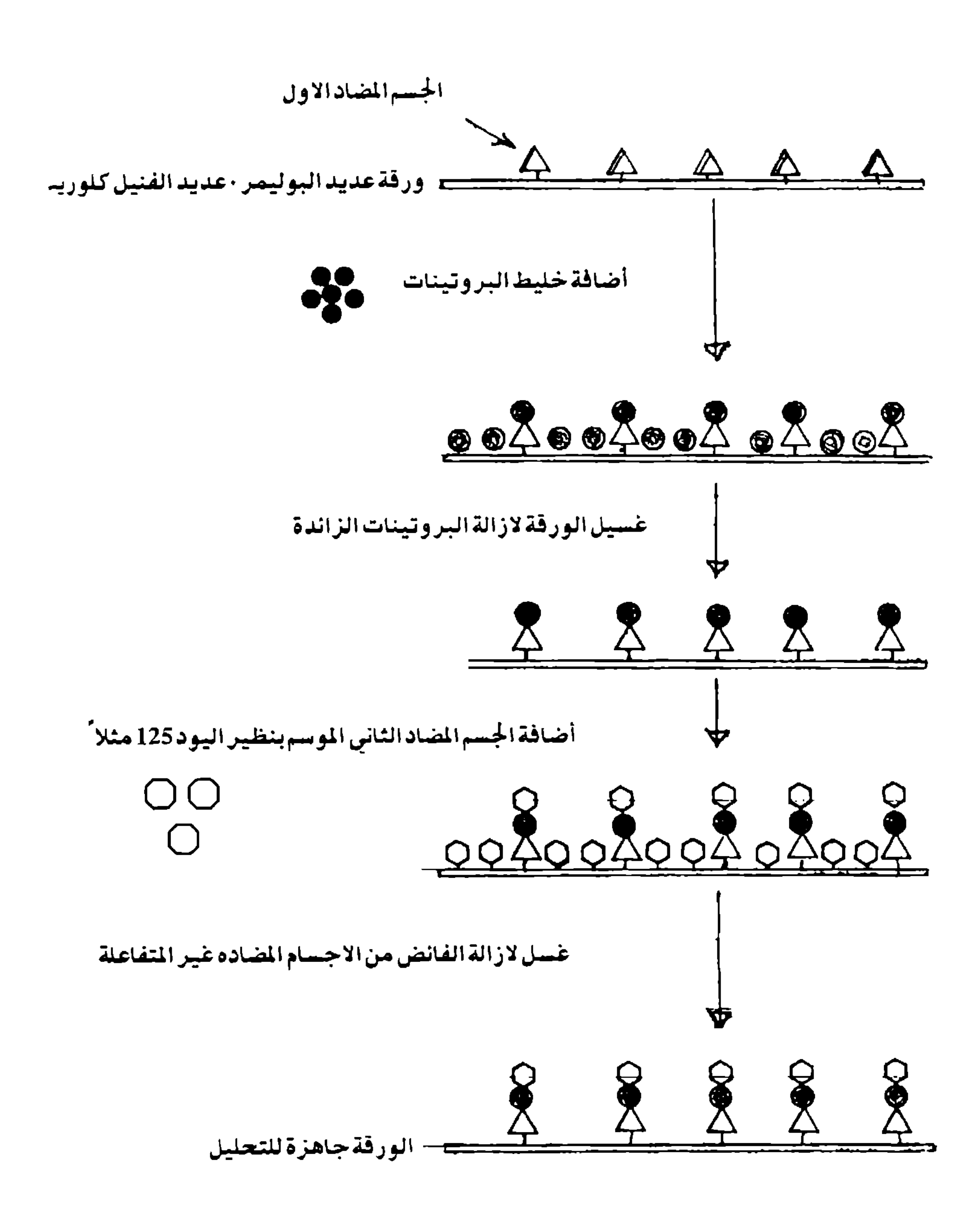
تنفصل سلاسل عديد الببتيد لكل بروتين عند تهجيرها في وسط كهربائي عالي الفولتيه وذلك أعتماداً على وزنها الجزيئي . اذ تهاجر الجزيئات الصغيره أولاً تليها الجزيئات الاخرى حسب وزنها الجزيئي . يصبغ الهلام بعد نهاية الهجرة بصبغات خاصه مثل صبغه الكوماسي الازرق والفضة لجعل حزم الجزيئات واضحة . كما يمكن استخدام مواد مناعيه أو اشعاعية لتحديد أنواع معينة من البروتينات .

طورت طرق الهجره الكهربائية كثيراً ويتوفر الان عدة طرق أخرى أهمها الهجره الكهربائية ثنائية الاتجاه Two _ dimensional electrophorasis والهجره بالتماثل الكهربائي Isoelectric focusing التي تساعد في فصل أعداد من انواع البروتينات مرة واحدة .

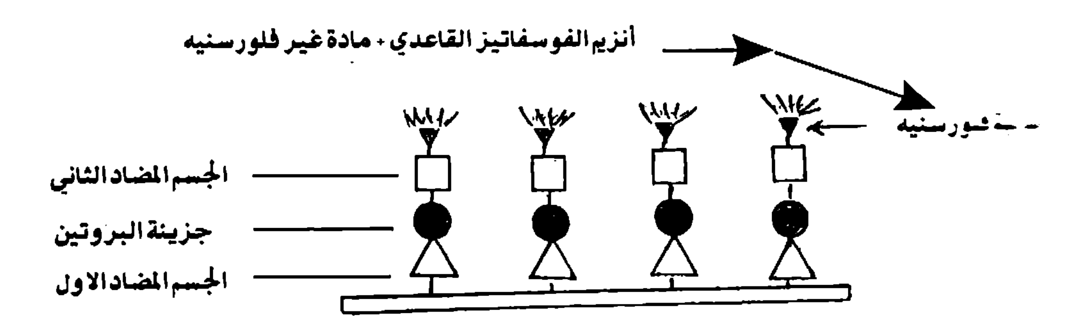
طرق تشخيص البروتينات :

هناك ثلاثة طرق رئيسية للكشف عن بروتين معين في خليط من بروتينات أولها يدعى بالقياس المناعي الجاف Solid phase immunoassay وتتلخص طريقته بوضع جسم مضاد للبروتين المطلوب الكشف عن وجوده على ورقة مصنوعه من عديدالبوليمرات ثم تغمس الورقة بمحلول خليط البروتينات حيث ترتبط الاجسام

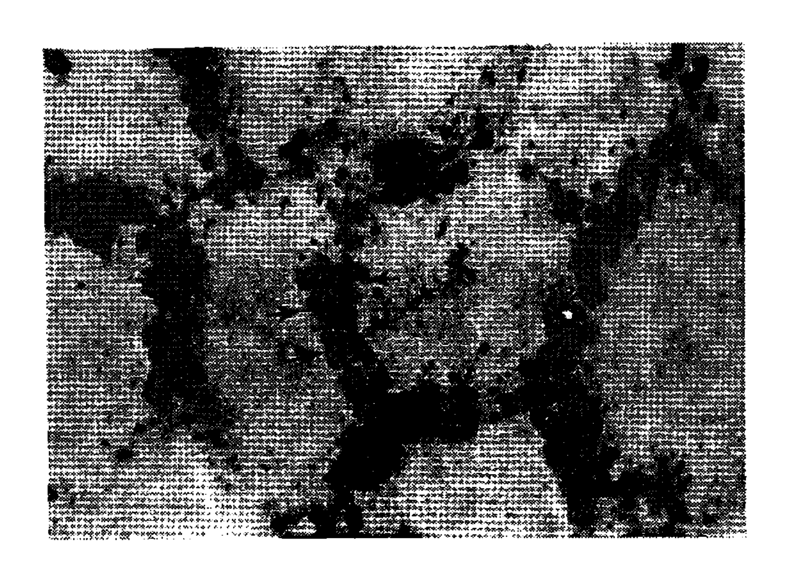
مضادة (أضداد) مع جزيئات البروتين المطلوب كشفه . تغسل الورقه بعد ذلك لازالة جزيئات البروتينات غير المرتبطه . تعامل الورقة بعد ذلك بأضداد موسمه ثانية تحتوي على عناصر مشعة ترتبط هذه مع معقد الاضداد الاولى - بروتين ثم يتم قياس قوة الاشعاع للتعرف على كمية البروتين المرتبط الموجوده في العينة المفحوصة .(أشكال 3_11و 13) . لقد تم زيادة حساسية هذه الطريقة وذلك بأضافة أنزيم الفوسفاتير القاعدي Alkaline phosphatase الذي يعمل على اكساب الاضداد الثانيه وميضاً فلورسنياً متألقاً يمكن الكشف عنه بالجهر المتألق الفلورسيني المزود بالاشعه فوق البنفسجيه .سميت هذه الطريقة بطريقة اليز ELISA وهي مختصر لاسم قياس الامتصاص المناعي المرتبط بالانزيم Enzyme Linked immunosorbent assay (شكل 3 - 12) أما الطريقة الثالثة في الكشف عن البروتينات فهي وذمه ويسترن Westren Blot . تعتمد هذه الطريقة على تهجير البروتينات عبر هلام ابولي اكرليمايد المقوى بمادة SDS ومادة ميركابتوأيثانول ثم نقل البروتينات المفصوله من الهلام الى ورق نتروسليلوز . تهجن ورقة النتروسليلوز الحاملة للبروتينات بجسم مناعي متخصص (ضد) موسم أشعاعياً أو بالبايوتين حيث يرتبط مع البروتين المطلوب تشخيصة .تغسل ورقة النتروسليلوز لازالة المواد الزائده غير المرتبطه ثم تغطى بفلم اشعه اكس في حاله ان الجس موسم اشعاعياً . تحفظ الورقه مع الفلم في كاسيت بدرجه حرارة 20 ـ م .



شكل 3_ 11 : القياس المناعي الجاف ويمكن في هذه الطريقة تعيين كمية البروتين أو نوعه أو كمية الاجسام المضاده في عينه من الدم أو البول أو خليط بروتيني بأستخدام مجس اشعاعي أو فلورسيني .

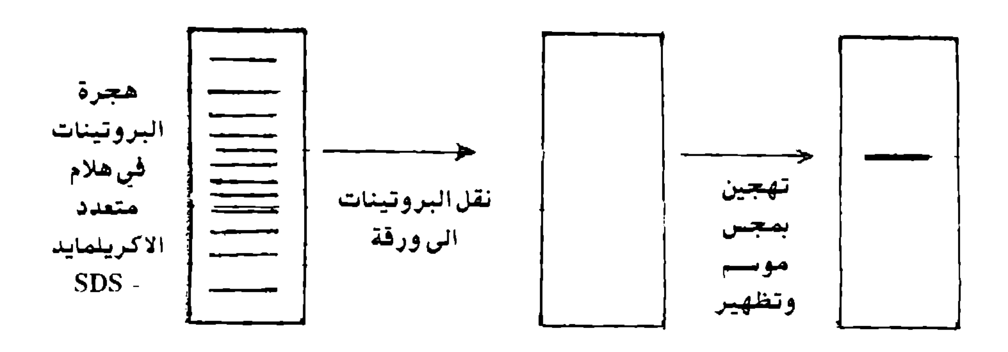


شكل 3 - 12 : طريقه القياس المناعي المرتبط بالانزيم ELISA حيث يتم توفير جزء فلورسيني من التفاعل الانزيمي لتمييز الاجسام المضاده المتفاعله مع البروتين المطلوب تعيينه أو تقدير كميته .



شكل 3 _ 14 : تحديد موقع أنزيم الفوسفاتيز الحامضي Acid phosphatase بطريقة أملاح الرصاص في خلايا أفرازية .المواقع السوداء تمثل مواقع الانزيم على الاغشيه البلازميه وفي بعض الاجسام الحالة .

لمدة أسبوع ثم يحمض الفلم حيث يظهر البروتين المطلوب في حالة وجوده كحزمه سوداء على الفلم (شكل 3 - 14) . كما يمكن أستخدام مواد مناعية لمعاملة البروتينات وهي على الهلام ثم فحص الهلام تحت مجهر فلورسيني بعد الغسل جيداً . أضافة للطرق السابقة فأنّ الهجره الكهربائيه عبر هلام مصنوع من النشا هي الاخرى من الطرق المهمه في تشخيص وفصل البروتينات ويتوفر طرق لصباغة قوالب النشا بعد الهجره الكهربائية خاصة بعدد لا بأس به من البروتينات .



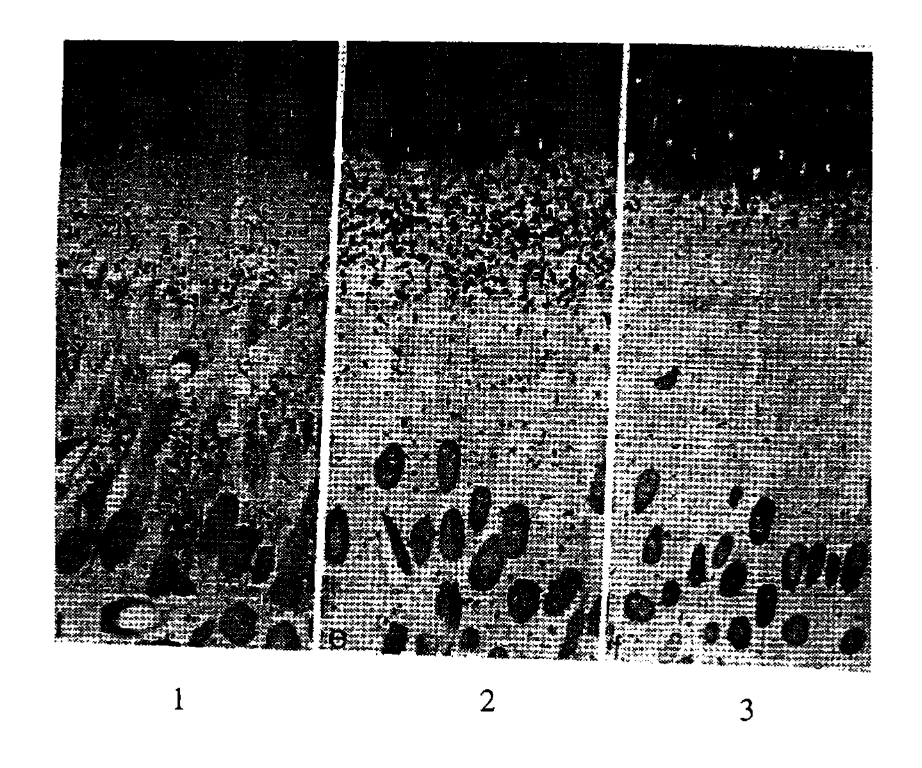
شكل 3 - 14 : كشف البروتين عن طريق وذمة ويسترن وتظهر الحزمه السوداء في فلم اشعة اكس التي تقابل البروتين المطلوب تعيينه .

أستخدام النظائر المشعة في الدراسات الخلوية :

النظائر المشعة Radioisotopes هي عناصر ذات نشاط اشعاعي ناشئ عن انبعاث الكترونات أو أشعة بسبب عدم استقرار نواة هذه العناصر . تقوم تقنية النظائر المشعة على أستبدال عناصر طبيعية مستقره بنظائرها من العناصر غير المستقرة ذات نشاط أشعاعي . فمثلاً يمكن استبدال الهيدروجين الطبيعي بنظير الهيدروجين الثالث (الترتيوم H^3) واستبدال الفوسفور بنظير الفوسفور 32(^{32} P) وكذلك استخدام نظائر النتروجين 14و15 و الكاربون 14 واليود 131 والكبريت 35 والكادميوم 45 بدلاً من العناصر الطبيعية .

تهدف تقنية النظائر المشعة الى تتبع أثر النشاط الاشعاعي في المركبات لمعرفة حركة العناصر والتمثيل والتفاعلات والنواتج الايضية وغير ذلك . كما يمكن تحديد كمية المواد أو العناصر أو المركبات من خلال معرفة كثافة الاشعاع وذلك بأستخدام أجهزه قراءة خاصه بذلك مثل عداد جايجر Geiger counter والعداد السائل Scin-tillation counter . فمثلاً يمكن متابعة تمثيل ثاني اكسيد الكربون داخل النباتات من خلال السماح لها بالعيش لفترة في وسط مشبع بنظير الكاربون 14 ($^{14}CO_2$) ثم استخلاص بعض مكونات الاوراق وفصل مكوناتها بالكروماتوغرافيا الورقيه وتحديد المركبات التي أستخدم فيها نظير الكاربون 14عن طريق هلام فوتغرافي خاص (شكل 3 - 15) . كما يمكن أستخدام نظير الكبريت 35(^{35} S) ونظائر النتروجين 14و15 (N^{14} وN^{15}) لدراسة البروتينات وتضاعف الحامض النووي DNA وتحديد مواقع كل منها في الخلية وذلك من خلال تربية الخلايا الحية على أوساط غذائيه تحتوي هذه النظائر .

وتستخدم الان النظائر المشعة كثيراً في تحضير المجسات الموسمة اللازمة في عمليات تهجين الحامض لتحديد ترددات مورثات معينة في قطع مختلفة من الـ DNA . كما تستخدم لمراقبة تفاعلات تضاعف الـ DNA وكذلك في تحديد المورثات على الكروموسومات ومتابعة الانقسامات الخلويه وتحديد مواقع الانزيمات وغيرها في الخلية .



شكل 3 - 15 :

صوره مجهرية لتتبع سير المركبات الكربوهدراتيه والبروتينيه الموسمه بنظير الهيدروجين الثالث (H^3) في خلايا أفرازية بعد فترات زمنية مختلفة .

1 ـ تجمع المواد الموسمه في جهاز كولجي .

2 ـ أفراز المواد كمعقدات بأتجاه غشاء البلازما .

3 ـ أفراز المعقدات الموسمه خارج الخلايا .

* النقاط السوداء تمثل المواد الموسمه أشعاعياً .

الفصل الرابع

الاغشية الخلوية

Cellular Membranes

مقـــدمة :

تحاط جميع الخلايا الحية بنطاق عازل يمثل حاجزاً فعالاً لمحتوياتها الداخلية يعمل على حماية الخلية من الظروف البيئية غير المستقرة المحيطة بها . ويتجاوز هذا النطاق حدود حماية الخلية بل يتعداه الى القيام بوظائف مهمة . يدعى هذا النطاق بالغشاء البلازمي أو الخلوي Plasma memberane أو Plasma lemma ويمثل أهمية حرجة لحياة الخلايا حيث أن الاضرار الكبيرة التي قد تحصل له تؤدي لحياة الخلايا الا ان له القدره على إصلاح الاضرار البسيطة التي قد تحصل لأسباب ميكانيكية أو كيميائية .

يتمكن هذا الغشاء من التحكم الاختياري في حركة الجزيئات من والى داخل الخلايا بسبب نفاذيته الاختيارية أو الانتخابية . هذا إضافة لقدرته على القيام بنقل جزيئات كبيرة أخرى بأساليب مختلفة أخرى .

وبالاضافة الى تحكم الاغشية البلازمية في حركة المواد من والى الخلية فإنها تعتبر أماكن نشيطة لبعض الفعاليات الحياتية مثل التنفس ونقل الاشارات بين الخلايا وغيرها .

وبجانب الاغشية البلازمية فإن الخلايا تحتوي على أنظمة غشائية أخرى بداخلها كما هو الحال في الاغشية المزدوجة المتفرعة المؤلفة للشبكة الاندوبلازمية وأجسام كولجي واللايسوسومات وأغشية المايتوكوندريا والعضيات السايتوبلازم الاخرى . إضافة للغشاء النووي الذي يحيط المادة الوراثية في الخلايا حقيقية النوى .

كانت دراسة الاغشية الخلوية قبل اكتشاف المجهر الالكتروني أشبه بالمستحيل بأستثناء الدراسات الكيميائية والتي لم تكن آنذاك كافية لرسم صورة كاملة عن تركيب هذه الاغشية ويعود ذلك لصعوبة أظهار هذه الاغشية تحت المجهر الضوئي الاعتيادي لان سمك هذه الاغشية يقع خارج نطاق

قــدره مـثل هـذه المجــاهـر علـى رؤيتـه اذ يبلـغ ســمكهـا حـوالـي 70 - 125 أنكسـتـروم .

الفحص المجهري للاغشية الخلوية :

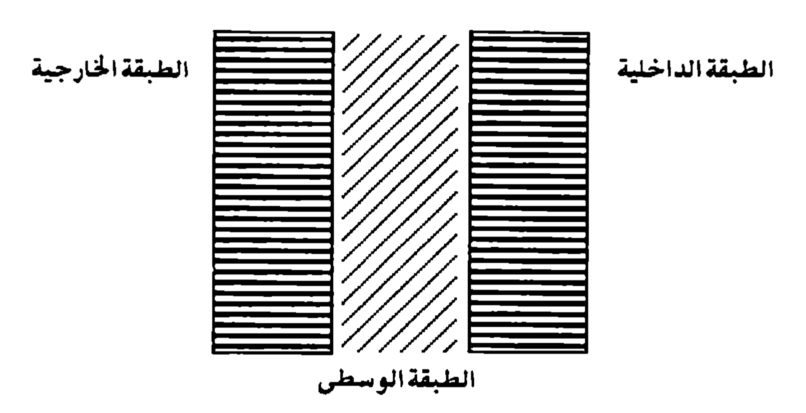
يعـتـبـر اسـتـخـدام طرق الـفـحص المجـهـريـة الدقـيـقـة عـن طريـق المجـهـر الالكتـرونـي أحـد أهـم الطـرق المسـتـخـدمـة فـي فـحـص ودراسـة الاغـشـيـة الخلويـة .

لقـد تم باستخـدام هـذه الطريقـة فحص العديد من الاغشيـة الخلويـة وتشمل هذه الاغشيـة البلازميـة واغشيـة العضيات السايتوبلازميـة المختلفـة .

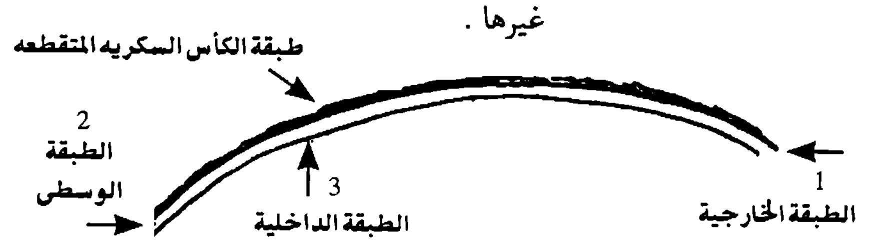
ونظراً لاختـلاف طرق تحضير عينات الاغشيـة المفحوصـة فقد بينت الدراسات بعض الفـروق في تركـيب هذه الاغـشيـة ويعـتقـد بأن بعض هذه الفروق يعـود الى الطريقـة المسـتـخـدمـة في مـعـاملـة عـينات الاغـشـيـة التي قـد تفـقـدهـا بعض مكوناتهـا وخصوصاً الدهون التي قد تذوب أو تتلاشى عند استخدام مذيباتها في تحضير الاغشيـة أو عند استخـدام درجات حرارة عاليـة كافيـة لاذابتها .

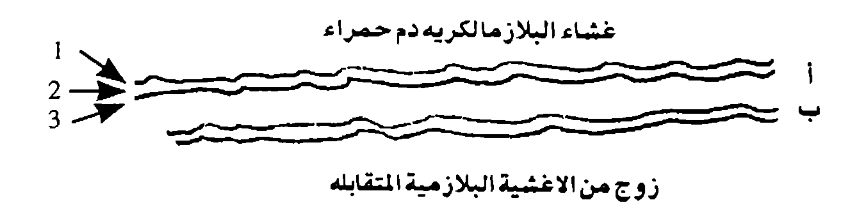
الا ان بعض هذه الفـروق في نتـائـج الفـحـوصـات المجـهـريـة قـد يعـود الى الاختـلاف في تركـيب بعض الاغـشـيـة أو وجـود تحـورات خـاصـة لـبـعض منهـا . وسنستعرض هنا بعض النتائج المهمة التي وردت حول تركيب الاغشيـة الخلويـة والتي تساند نتائج التحليل الكيميائي للاغشيـة .

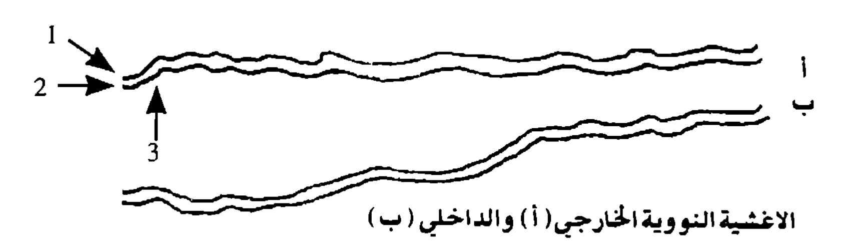
أوضحت صور المجهر الالكتروني التي أخذت لتحضيرات مختلفة من الاغشية البلازمية بأنها مؤلفة من تركيب ثلاثي متميز مؤلف من طبقتين جانبيتين سميكـة يبلغ سمك كل منهما حوالي 25 A˚ أنكستروم مفصولتان بطبقة أرق يبلغ سمكها 20 A˚ أنكستروم وقد ظهر من نتائج فحص نماذج من الاغشية البلازمية تعود لخلايا مختلفة بأن سمك هذه الطبقات مختلف وتبعاً لذلك فان سمك الغشاء البلازمي مختلف وانه يتراوح ما بين 72 أنكستروم الى 125 (أشكال 4 - 1 و 2) .



شكل 4 - 1 : تخطيط للتنظيم الجزيئي الثلاثي الطولي للاغشية البلازمية وأخرى غيرها .







شكل 4 - 2 : تخطيط لبعض صور المجهر الالكتروني المأخوذة لعدد من الاغشية الخلوية ويلاحظ نظام التركيب الثلاثي الطولي لها .

وقد أتضح من فحوصات نماذج أخرى تعود للمايتوكوندريا والشبكة الاندوبلازمية والبلاستيدات بأنها مؤلفة من ذات التركيب الموجود في غشاء البلازما مع وجود أختلاف في سماكة الطبقة الداخلية من هذه التركيبات ونسبة المواد .

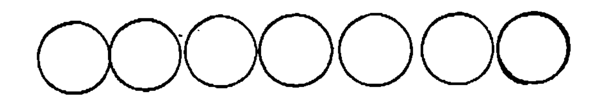
كما أوضحت صور المجاهر الالكترونية التي أخذت لهذه الاغشية وجود طبقة رقيقة خارجية أضافية تظهر في بعض المقاطع مستمرةومتقطعة في نماذج أخرى . دعيت هذه الطبقة بالكأس السكرية Glycocalyx نظراً لوجود السكر بوفرة في تركيبها .

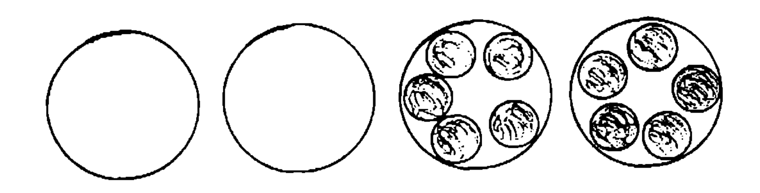
كما بينت الصور المجهرية وجود زوائد أو طيات خارجية تظهر في بعض النماذج الغشائية المحضرة من خلايا الزغابات المعوية والخلايا الاندوثيلية وخلايا أخرى . بينما أظهرت صور اغشية المايتوكوندريا وجود إختلافات في سمك هذه الاغشية وقد تبين فيما بعد بأن ذلك يعود الى الاختلاف في الحالة الفسلجية للمايتوكوندريا عند تحضير الاغشية حيث يختلف سمك الاغشية أعتماداً على حالة نشاط الطاقة في المايتوكوندريا لحظة عزل أغشيتها .

لم يكن النموذج الطولي الثلاثي التركيب الذي تحدثنا عنه سابقاً هو النموذج الوحيد الذي ظهر في صور المجهر الالكتروني للاغشية الخلوية بل ظهرت صور أخرى مختلفة .

أهم هذه الصور هو وجود تنظيم دقيق مؤلف من تجمعات كروية طولية أو دائرية لبعض الاغشية . ففي الفحوصات المجهرية التي أجريت على أغشية معزولة من خلايا شبكية العين من الفقريات ومن خلايا كبدية من الفأر وأخرى من كريات الدم الحمراء البشرية وجد بأن نظام التركيب الكروي للغشاء البلازمي هو السائد حيث تبدو الاغشية في الصور المأخوذة لتحضيرات مجمدة أو سالبة الصبغة مؤلفة من وحدات كروية مرتبة بطرق مختلفة وتبدو مذيلة في بعض منها . وفي جميع الاحوال فإن سمك هذه الاغشية ذات التركيبات الكروية يبدو أقل سماكة مما هو

ـوجود في الاغشية ذات التراكيب الثلاثية الطولية التي تحدثنا عنها سلفاً ويتراوح سـمك الاغشـية الكروية التـركيب هذه ما بين 71 - 91 أنكسـتـروم في الاغشـيـة ـبلازمية و 72 - 82 أنكستروم في الغشاء الخارجي للنواة و 62 - 77 أنكستروم في ـغشية اجسام جولجي(شكل 4 - 3) .





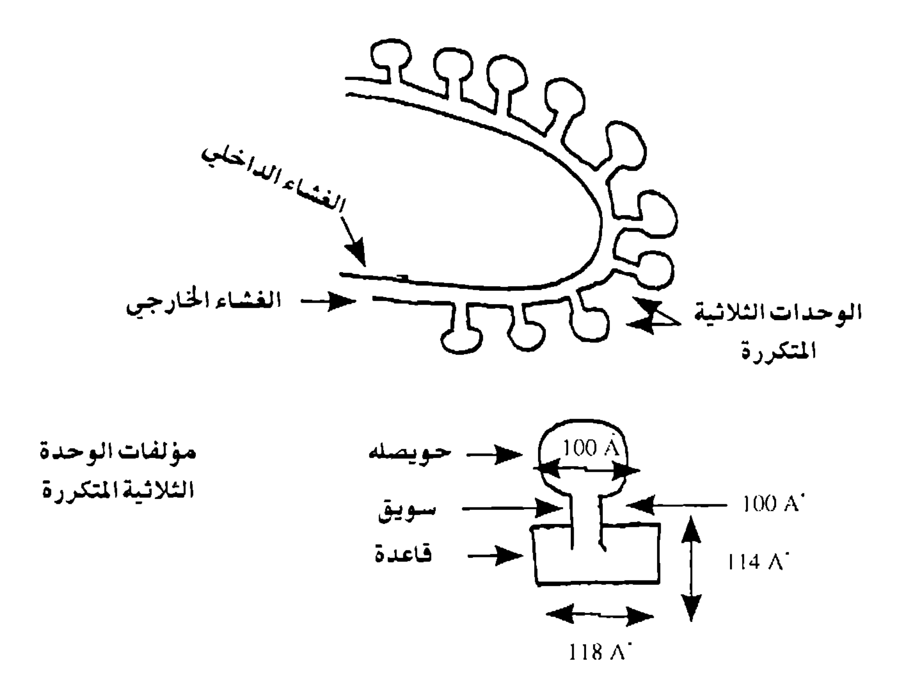
شكل 4 - 3 : تخطيط لنظام التجمعات الكروية الطولية (أ) أو الدائرية (ب) لبعض الاغشية الخلوية .

أما الاغشية الداخلية للمايتوكوندريا والبلاستيدات فأنها تبدو اكثر تعقيداً في تركيبها من الاغشية الاخرى حيث تبدو هذه من خلال التحضيرات المصبوغة بالصبغة السالبة او غيرها بأنها مؤلفة من وحدات كروية متسلسلة ترتبط بها وحدات ثلاثية متكررة تبرز من السطوح الخارجية . تبدو الوحدات الثلاثية مؤلفة من جزء قاعدي مرتبط مع الوحدات الكروية وسويق بارز نحو الخارج ترتبط في نهايته فقاعة تختلف في هيئتها حيث تظهر حويصلية أو أنبوبية أو كروية . (شكل 4 - 4)

ويعتقد بأن وجود الوحدات الثلاثية المتكررة بنهايات مختلفة له علاقة بالوظائف الفسلجية للغشاء الداخلي للمايتوكوندريا و البلاستيدات . وتفترض أحدى النظريات الى ان وجود النهاية الخارجية للوحدة المتكررة بهيئة عمودية أو أفقية يعتمد على نوع النشاط الذي تقوم به هذه الوحدات .

ويلاحظ مما سبق أن هناك صعوبة كبيرة في تخمين التركيب الدقيق أعتماداً على صور المجهر الالكتروني على الرغم من أنها قدمت لنا معلومات كبيرة حول ذلك . ويبدو بأن طرق تحضير العينات المختلفة لأجل الفحص المجهري لها دور كبير في إظهار بعض نماذج الاغشية نظراً لتأثير بعض هذه التحضيرات على التركيب الحقيقي وعلى تنظيم جزيئات الاغشية الخلوية وهذا ما يفسر حصول الباحثين على أكثر من نظام تركيبي لبعض الاغشية كما هو الحال في الاغشية النووية والاغشية البلازمية وغيرها . ولا يستبعد وجود أنظمة مختلفة لتركيب هذه الاغشية حتى في النوع الواحد .

لقد دفعت مثل هذه الشكوك ووجود الانظمة الدقيقة العديدة لتركيبات الاغشية الخلوية الباحثين الى وجوب أجراء التحليل الكيميائي لهذه الاغشية ومعرفة مكوناتها وأجراء التجارب المختبرية لمعرفة طريقة تنظيمه



شكل 4 - 4 : تخطيط لموقع الوحدات الثلاثية المتكررة على السطح الداخلي لغشاء المايتوكوندريا الداخلي مع النموذج المتوقع للوحده الثلاثية المفردة .

التحليل الكيميائي للاغشية الخلوية :

أظهر التحليل الكيميائي للاغشية الخلوية بأنها مؤلفة من البروتينات والدهون وقليل من الكاربوهيدرات وتختلف نسب هذه المواد الى بعضها في نماذج الاغشية المختلفة .

ففي الاغشية البلازميه وأغشية المايتوكوندريا والنواة تزداد نسبة البروتينات لتصل الى اكثر من نصف مؤلفات هذه الاغشية مقارنة بنسبة من الدهن تتراوح ما بين 15 - 40 % بينما تؤلف البروتينات والدهون نسب متقاربة في اغشية الشبكة الاندوبلازمية .

ويعتبر الماء شريكاً معروفاً في الائتلاف بين البروتينات والدهون لهذه الاغشية .

وجد بأن البروتينات الغشائية مؤلفة من جزيئات ثنائية الصفات حيث أن جزء منها ذو قطبية عالية تمكنه من التآصر مع الماء بينما يفتقد الجزء الثاني منه لهذه القطبية مما يرشحه للارتباط مع الدهون ويعود الاختلاف هذا الى الاختلاف في نوع الاحماض الامينية الموجودة في هذه الاجزاء حيث تتركز الحوامض الامينية ذات السلاسل الجانبية مثل الليوسين والفالين والجلايسين في الجزء الدهني بينما يكون الجزء المحب للماء غني بأحماض أمينية ذات نهايات كاربوكسيلية وأمينية مثل أحماض الجلوتاميك والثايروسين والهستدين وغيرها .

كما بينت التحاليل الكيميائية التي اجريت على البروتينات الغشائية بأنها يمكن أن توجد بصورة ممتدة طوليا أو على هيئة كتل ملتفة على بعضها .

أما التحليل الكيميائي للدهون فقد وجد بأنها مؤلفة في الغالب من دهون مفسفرة يسودها الليسيثين 50 - 60 % تؤلف الانواع الاخرى من الدهون مثل الدهون السكرية والكوليسترول وغيرها ما تبقى من النسبة . تختلف نسبة وجود أنواع الدهون أعتماداً على نوع الاغشية . ففي أغشية المايتوكوندريا والنواة تؤلف الدهون المفسفرة نسبة عالية تصل الى اكثر من 80% وما تبقى من النسبة يمثل الدهون القلبية Cardiolipids والدهون النخاعية Sphengomyelin والدهون السكرية والكولسترول (جدول 4 - 1) .

وتمثل الانواع المختلفة من الدهون في الانواع الاخرى من الاغشية بنسب مختلفة وتوجد الدهون المفسفرة فيها بالنسبة الاعلى .

توجد الدهون أما مشبعة أو غير مشبعة ويعتمد ذلك على طول السلاسل الاليفاتية الموجودة فيها وكلما زاد طول هذه السلاسل زادت كثافة الدهن وأصبح مشبعاً ويعتقد بأن الدهون غير المشبعة اكثر فعالية من الدهون المشبعة ذلك انها قادرة على التآصر مع الجزيئات المجاورة لها وبذلك فانها تعمل على زيادة ارتباط مكونات الاغشية مؤدية الى تماسك الاغشية . ولا تقتصر أهمية السلاسل الاليفاتيه على إيجاد الاواصر مع الجزيئات الاخرى بل انها تزيد من قطبية هذه

الاجزاء مما يجعلها أجزاء محبة للماء وقادرة على التأصر معه مقارنة بالاجزاء الهيدروكسيليه او الفسفورية من الدهن الكارهه له وهي بذلك تعطي للدهن كما للبروتين قطبية متعاكسة .

ولهذه القطبية أهمية كبيرة في تأصر الاجزاء الكارهه للماء من الدهون والبروتينات مع بعضها او وجودها بشكل متقابل بعيداً عن الماء . هذا اضافة لقدرة الجزيئات الدهنية في وجود القطبية المتعاكسة على تنظيم نفسها على جزيئات الماء الدقيقة مشكلة التراكيب الدائرية لنظام التجمعات الكروية الطولية او الدائرية لبعض الاغشية .

وقد وجد بأن مزيج من الليسيثين والكوليسترول او بوجود السابونين يمكن أن يؤلف نظام التجمعات الكروية مع الماء ترتبط مع بعضها بأنيبوبات أو ذيول دقيقة ممتدة من مراكز الكريات هذه بأتجاه بعضها البعض . وتلعب الايونات المحلية دوراً في زيادة كثافة هذه التجمعات عبر أرتباطها مع النهايات القطبية للدهون الفسفورية وخصوصاً الليسيثين .

الخلية	٪ البروتين	٪ الدهون	٪ الكاربوهيدرات
الكبدية	55	35	15
النخاعية	30	64	6
الدم الحمراء	65	25	5
(مايتوكوندريا)	76	25	-
بكتريا	20	40	-
عصبية	58	40	2

جدول 4 - 1 : معدل نسب المكونات الكيميائية في الاغشية البلازمية لخلايا مختلفة .

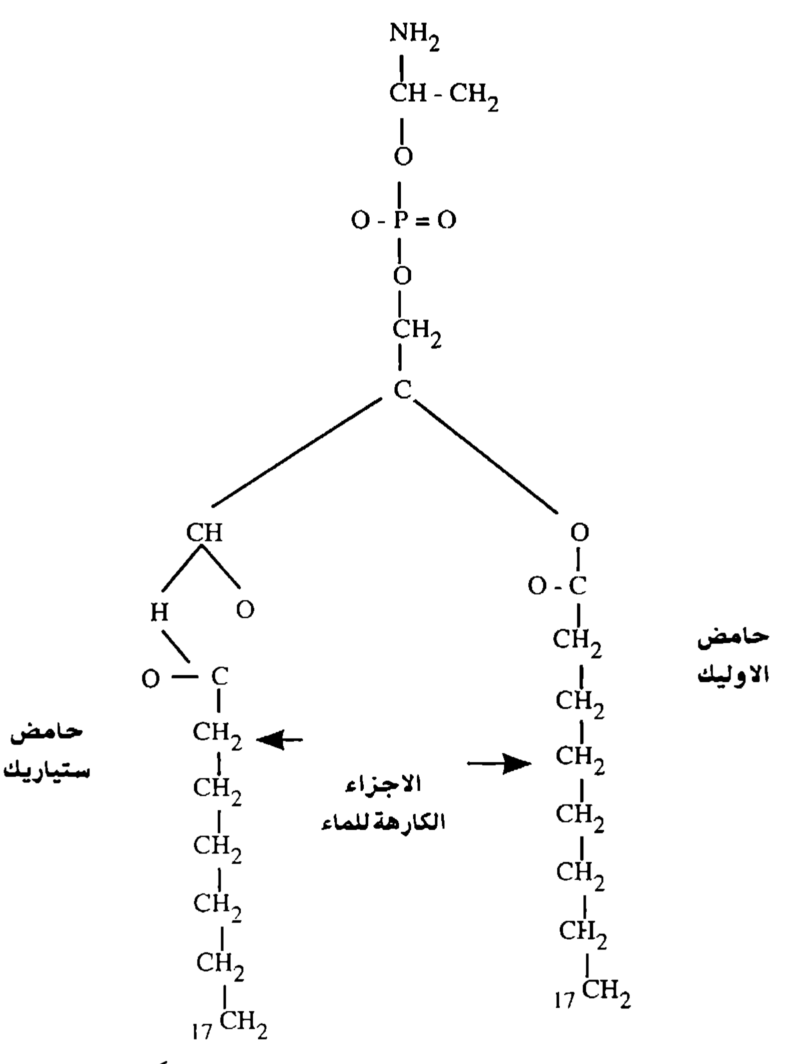
ونظراً لوجود العديد من العوامل الداخلية لمركبات الاغشية الخلوية والتي تساهم في ارتباط هذه المركبات مع بعضها فإن الاغشية الخلوية يمكن أن تتشكل بصور مختلفة أعتماداً على تنظيم الجزيئات المؤلفة من البروتينات والدهون والسكريات والاملاح والماء . وبسبب وجود عدة أحتمالات حول طريقة تنظيم هذه الجزيئات لبناء الاغلفة الخلوية لذلك فقد أفترضت عدة فرضيات حول طريقة تشكيل الاغلفة الخلوية وسنتناول هنا عدد من النماذج المفترضة لذلك .

نموذج جورتر وجرندال :

تمت عملية تحليل كيميائي للعديد من الاغشية البلازمية وغيرها وقد بينت هذه التحاليل وجود نسبة عالية من الدهون في تركيبها مما دفع البعض من الباحثين أمثال أوفيرتون عام 1898 الى الافتراض بأن هذه الاغشية ربما تكون مؤلفة من الدهون فقط مما يسمح للخلايا بتبادل الجزيئات مع وسطها الخارجي وفيما بينها ولم يعر أوفيرتون أهمية لدور البروتينات في تركيب الاغلفة .

الا أن كمية الدهون التي وجدها جورتر وجرندال في تركيب أغشية كريات الدم الحمراء والتي تعادل ضعف حجم هذه الكريات فيما اذا كانت الاغشية مؤلفة من طبقة واحده كما أفترضها أوفيرتون مما تسمح بوجود الاغشية بهيئة مزدوجة . وأستناداً الى وجود قطبية متعاكسة في جزيئات الدهون الغشائية فقد أفترضو نموذجاً خاصاً يتألف من طبقتين تتقابل فيهما الاجزاء الكارهه للماء من الدهون فيما تقع الاجزاء المحبة للماء على طرفي الطبقتين (شكلي 4 - 5 و 6) . كان هذا النموذج هو أول نموذج يبنى لتركيب الاغشية الخلوية وقد أهمل جورتر وجرندال كذلك دور البروتينات والماء في هذا النموذج .

شكل 4 - 5 : النموذج المزدوج الطبقات الدهنيه الذي أقترحه كورتر وجرندل للغشاء البلازمي .



شكل 4 - 6 : مكونات جزيئة الدهن المفسفرة موضحاً فيها الاجزاء المحبة والكارهة للماء .

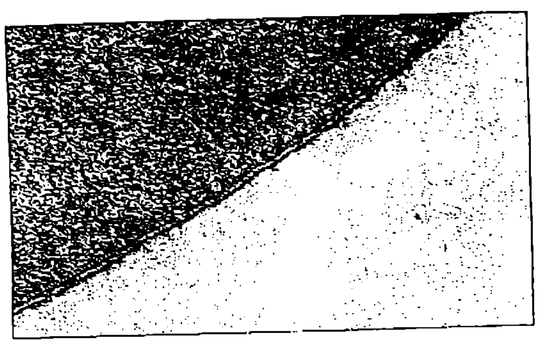
لقد أختلف العلماء حول صحة نموذج كورتروجرندل خصوصاً بعدما أوضحت صور المجهر الالكتروني بأن الغشاء البلازمي ربما يكون مؤلف من ثلاثة طبقات وهكذا ظهرت نماذج جديدة للغشاء أهمها نموذج دافدسون ودانيللي والنماذج المحوره منه ونماذج كلورد ولوسي وجوستراند ونموذج سنجر ونيكلسون الفسيفسائي .

نموذج دافدسون ودانيللي :

أستند هذا النموذج الى وجود طبقتين سميكتين من البروتين تحيطان بطبقة أرق من الدهون ظهرت في صور المجهر اللاالكتروني التي أخذت لغشاء بلازمي خلوي (شكلي 4 - 7 و 8) .



شكل 4 - 7 : صورة مجهر الكتروني لغشائين بلازميين متقابلين وجزء مكبر لاحدهما .



(a)



b

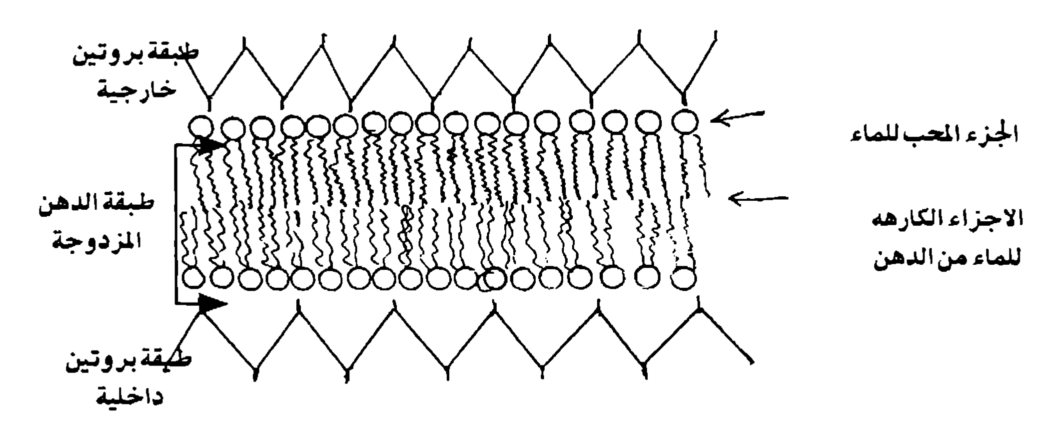
شكل 4 - 8 : الغشاء البلازمي في صورتين من المجهر الالكتروني .
a : الغشاء البلازمي لجزء من خلية .
b : غشاءان بلازميان متجاوران .

أفترض هذا النموذج بأن ـبقة الدهون الوسطية مؤلفة من ـفين طويلين من الجزيئات ـدهنية التي تتألف غالباً من ـدهون المفسفرة والسترويدات . ـترتب هذه الجزيئات في كلا ـصفين بحيث تتقابل الاجزاء ـكارهه للماء داخليا وبصورة ـتقابلة مع بعضها بينما تقع ـاجزاء المحبة للماء من جزيئات ـدهن نحو الخارج بحيث تتمكن من الارتباط مع الطبقتين الداخلية والخارجية المؤلفتان من البروتين . وتلعب القطبية الموجودة في جزيئات الدهن في هذا النموذج دوراً كبيراً في تنظيم الغشاء (شكل 4 - 9) .

وكما يلاحظ فأن جزء كبير من هذا النموذج مشتق من النموذج المفترض من قبل كورتروجرندال .

ينسجم هذا النموذج مع التركيب الثلاثي الطولي الذي ظهر في صور المجهر الالكتروني للغشاء البلازمي ويساعد كثيراً في تفسير بعض الانشطة الحيوية التي يقوم بها هذا الغشاء مثل التبادل الاختياري للمواد والانتشار . الا ان هذا النموذج لا يستطيع تقديم تفسير عن نشاط النقل المسهل والفعال الذي تقوم به الاغشية . لذلك تعرض هذا النموذج للتحوير مراراً بسبب ذلك .

أستندت هذه التحويرات الى عدة حقائق علمية أخرى ظهرت من التجارب العلمية التي أجريت لاختبار نظرية نموذج دافدسون ودانيللي .



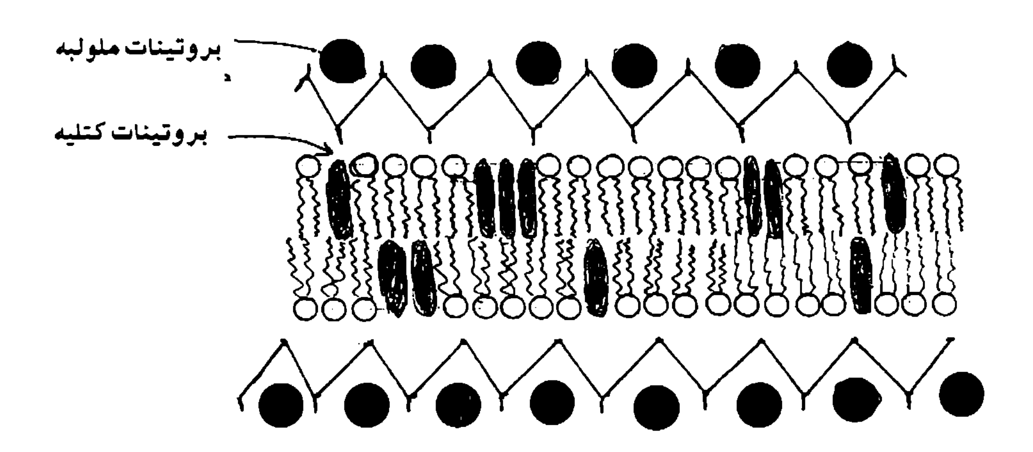
شكل 4 - 9 : النموذج الثلاثي الطولي لدافدسون ودانيللي .

أهم هذه الحقائق أن البروتينات يمكن أن توجد على هيئة ممتدة طولية او على هيئة تجمعات او كتل . كما أن للبروتينات ايضاً قطبية متعاكسة . كما اظهرت التجارب التي استخدم فيها انزيم اللايبيز والفسفوليبيز لهضم الاغلفة الخلوية بان عملية الهضم لم تشمل جميع الغشاء بل شملت مواقع متفرقة على طول الغشاء وهذا ما يعطي الانطباع لوجود جزيئات أخرى غير دهنية (بروتينات) تمتد بين الطبقات الدهنية وقد تجتازها نحو الاعلى والاسفل .

كما يعتمد وجود البروتين على هيئة ممتدة أو تجمعية على نوع سلاسل عديد الببتيد حيث تنتظيم سلاسل جاما عادة على هيئة لولبية وعلى هيئة ممتدة عندما تكون بهيئة الفا . كما اهمل النموذج السابق وجود دهون سكرية وكمية من السكريات قليلة التعدد Oligosaccharides .

وأستناداً الى ما سبق إضافة لنتائج علمية أخرى فإن النموذج السابق قد تم تعديله بأضافة البروتينات الداخليه الى تركيبه وأصبح النموذج كما أقترحه

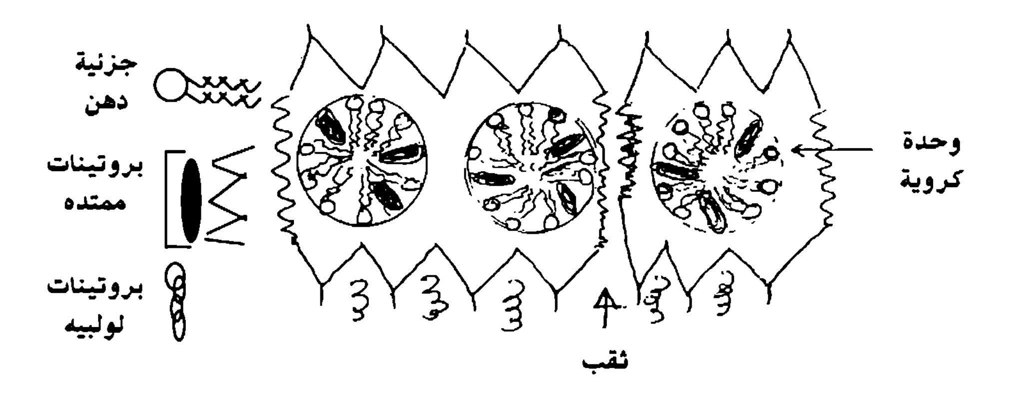
جوستراند مؤلف من طبقة مزدوجة داخلية من الدهون تحتوي على بعض المواقع البروتينية إضافة لوجود تجمعات من البروتينات الخارجية والداخلية اضافة للطبقات السابقة (شكل 4 - 10) .



شكل 4 - 10 : النموذج الجديد للغشاء البلازمي الذي أقترحه جوستراند .

وقد عُدِلَ هذا النموذج مرات عدة أحاطت في بعضها غلالات بروتينية حول مجاميع من الجزيئات الدهنية كما فعل وولانج وزهلر في نموذجهما الذي أقترحاه واللذان أفترضا فيه وجود جزيئات كبيرة متعددة تتألف كل منها من عدد من الجزيئات المزدوجة الدهنية المتعامدة الترتيب والمحاطة بطبقة بروتينية مع وجود طبقات مزدوجة من الجزيئات الدهنية التي تتخلل الجزيئات الكبيرة . وقد أفترضوا في نموذجهما بأن الجزيئات الكبيرة تعطي القوة والتماسك التي تتميز بها الاغشية الخلوية بينما تعطي الطبقات الدهنية المزدوجة المرونة اللازمة والقدرة على أنتقال الجزيئات وتبادلها مع الوسط الخارجي .

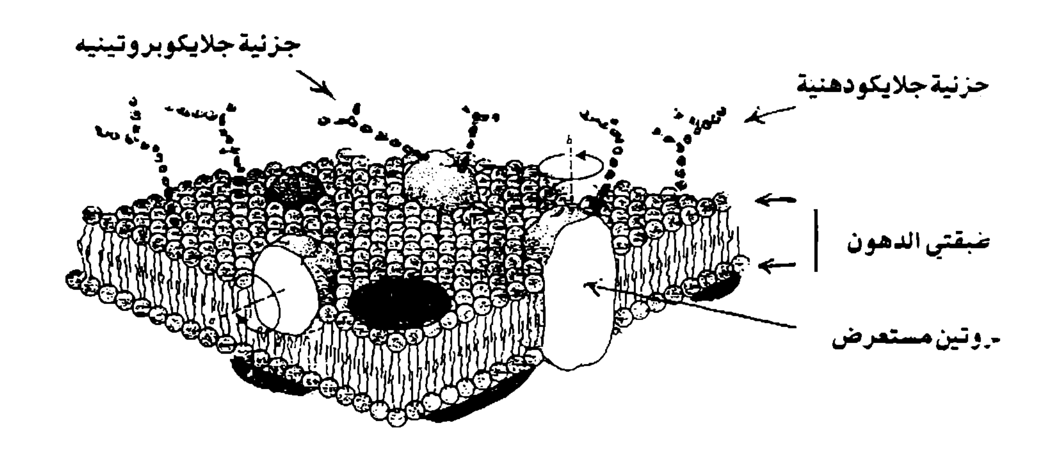
كما أقترح كل من كلورد ولوسي وجوستراند على انفراد نماذج مختلفة للغشاء البلازمي معتمدين على ما ظهر من صور للمجهر الالكتروني لبعض الاغشية التي تظهر بأنها مؤلفة من تجمعات كروية مفردة أو مركبة . تميز نموذجهما بوجود وحدات كروية مؤلفة من الدهون الفسفورية والبروتين محاطة جميعها بغلالات بروتينية ويعتمد شكل البروتين في هذا النموذج أعتماداً على صوره فهو ممتد عندما يكون على هيئة بيتا يتداخل مع جزيئات الدهن ولولبي عندما يكون بهيئة جاما ويمثل معظم بروتينات الغلالات المحيطة (شكل 4 - 11) .



شكل 4 - 11 : نموذج التجمعات الكروية الذي أقترحه كلورد ولوسي وجوستراند لتركيب الغشاء البلازمي .

ويعتمد النموذج الفسيفسائي المائع الذي أقترحه سنجر ونيكلسون عام 1972 أفضل النماذج قبولاً واكثرها تطابقاً مع الوقائع لتحليل الاغشية الخلوية . أستند هذا النموذج الى أن الدهون الفسفورية التي تؤلف الطبقة المزدوجة الداخلية من الغشاء عبارة عن تركيب مائع عند درجة حرارة الجسم لان درجة أنصهارها أقل من درجة أنصهار الدهون المشبعة الاخرى لذلك فإن البروتينات سوف تطفو على الدهن وذلك أعتماداً على وزنها الجزيئي وتوزيع الشحنات عليها . لهذا فإن بعض البروتينات تقع على سطح الغشاء ولا تخترق طبقة الدهن وتدعى هذه بالبروتينات الخارجية بينما يخترق بعض البروتينات طبقة الدهن بأعماق مختلفة .

كما وجد بأن عمق الاختراق البروتيني قد يعتمد على تغييرات محدودة في كيمياء الغشاء . هذا إضافة الى وجود تجمعات بروتينية داخلية غير مستمرة تمثل طبقة بروتينية داخليةو مواجهة للبيئة السائلة داخل الخلية . كما تضمن النموذج وجود جزيئات جلايكوبروتينيه وأخرى جلايكو دهنية ترتبط مع جزيئات البروتين الخارجية تمثل مواقع مستقبلات المواد على سطوح الاغشية (شكل 4 - 12) .



شكل 4 - 12 : النموذج الفسيفسائي المائع لتركيب الغشاء البلازمي .

التحورات الغشائية :

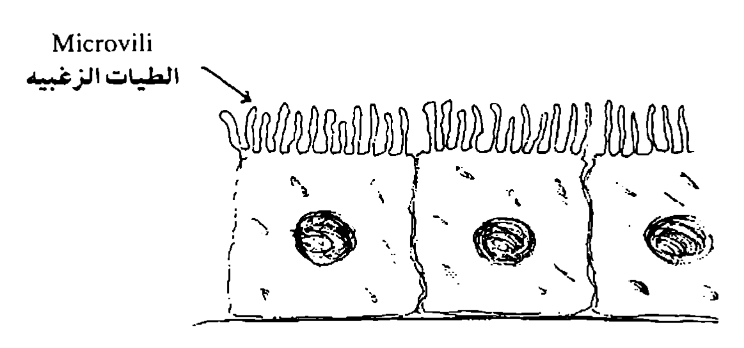
لا تختلف الاغشية الخلوية في التركيب الكيميائي الدقيق لها فقط بل تظهر إختلافات مورفولوجية أيضاً وسنبحث مثل هذه الاختلافات في التفاصيل الاخرى في الفصول القادمة .

كما أسلفنا سابقاً فإن النموذج الفسيفسائي المائع الذي هو اكثر النماذج قرباً لتركيب الاغشية الخلوية وأستناداً الى هذا النموذج وكذلك لنتائج التجارب المختبرية التي أجريت فأن سماكة الاغشية تختلف من موقع الى آخر ويزيد من سماكة هذه المواقع وجود الطبقة الكاربوهيدراتيه للكأس السكرية في حالة وجودها .

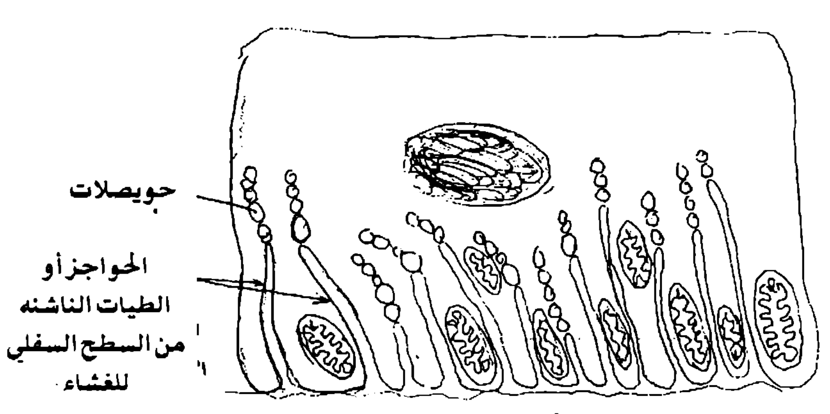
يظهر الغشاء البلازمي لمعظم الخلايا أملساً في معظم جوانبه الا أن هذه الصفة لا تكون سائده في جميع الخلايا . فالخلايا الطلائية المعوية على سبيل المثال تظهر تركيبا غشائياً ذو ثنيات وطيات كبيرة قد تشمل جوانب الغشاء أو الجزء السطحي منه فقط ، ويشغل السايتوبلازم الفراغات الناشئة من هذه الانثناءات . بينما يكون الجزء الغشائي القاعديه منه أملساً تقريباً (شكل 4 - 13) .

أما في خلايا نفرونات الكلية وقنوات الغدد اللعابية والغدد العرقية في اللبائن فأن السطح القاعدي للاغشية البلازمية لها يحتوي على طيات داخلية تمتد داخل سايتوبلازم هذه الخلايا وتعمل على تكوين حواجز متشابكة . وغالباً ما تحتوي هذه الحواجز على مايتوكوندريا واحدة أو أكثر (شكل 4 - 14) .

ويظهر من الفحوصات المجهرية لهذه الطيات والحواجز بأن بعض منها ينتهي بحويصلات صغيرة متجاورة تستمر على أمتداد الحواجز . ويبدو بأن التحورات الغشائية للخلايا الطلائية المعوية و الخلايا الكلوية تساهم في مساعدة الخلية على أداء وظيفتها حيث تعمل هذه الطيات على زيادة المساحة الامتصاصية للاغشية البلازمية وهو ما يفسر وجود المايتوكوندريا بقرب هذه المواقع حيث تحتاج الى طاقة مستمرة لاداء وظيفتها التبادلية .

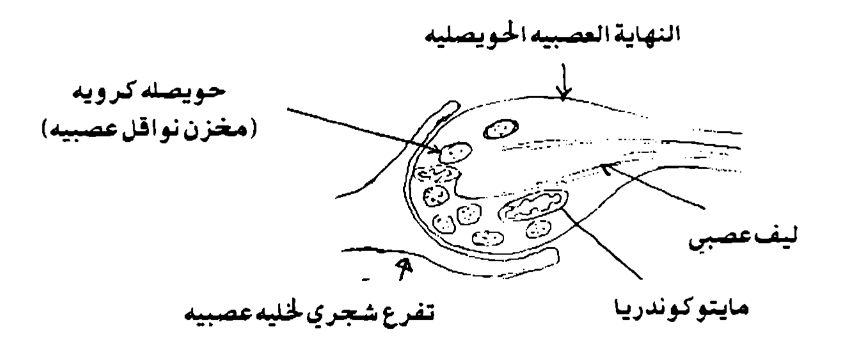


شكل 4 - 13 : الطيات الكثير للسطح الخارجي للغشاء البلازمي للخلايا الطلائية المعوية .



شكل 4 - 14 : الطيات أو الحواجز الناشئة من الغشاء البلازمي القاعدي لخلية كلوية .

قد ينتفخ الغشاء البلازمي في بعض مواقعه كما يحصل في نهايات محاور الخلايا العصبية وكذلك في نهايات تفرعات الشبكية وكذلك في مواقع أرتباط النهايات العصبية مع العضلات ، تظهر مثل هذه الانتفاخات كحويصلات مختلفة القطر تتراوح ما بين 20 - 65 نانوميتر وتمثل مناطق تبادل السيالات العصبية . لقد وجد من الفحوصات المجهرية لهذه الحويصلات بأنها مخازن لكريات صغيرة جداً أثبتت الابحاث الحديثة بأنها مخازن لنواقل عصبية كيميائية . كما أحتوت هذه الحويصلات على عدد من المايتوكوندريا مما يؤكد وجود دور نشط لها في العملية العصبية . (شكل 4 - 15) .



شكل 4 - 15 : الانتفاخ الحويصلي للغشاء البلازمي لخلية عصبية في منطقة التشابك العصبي .

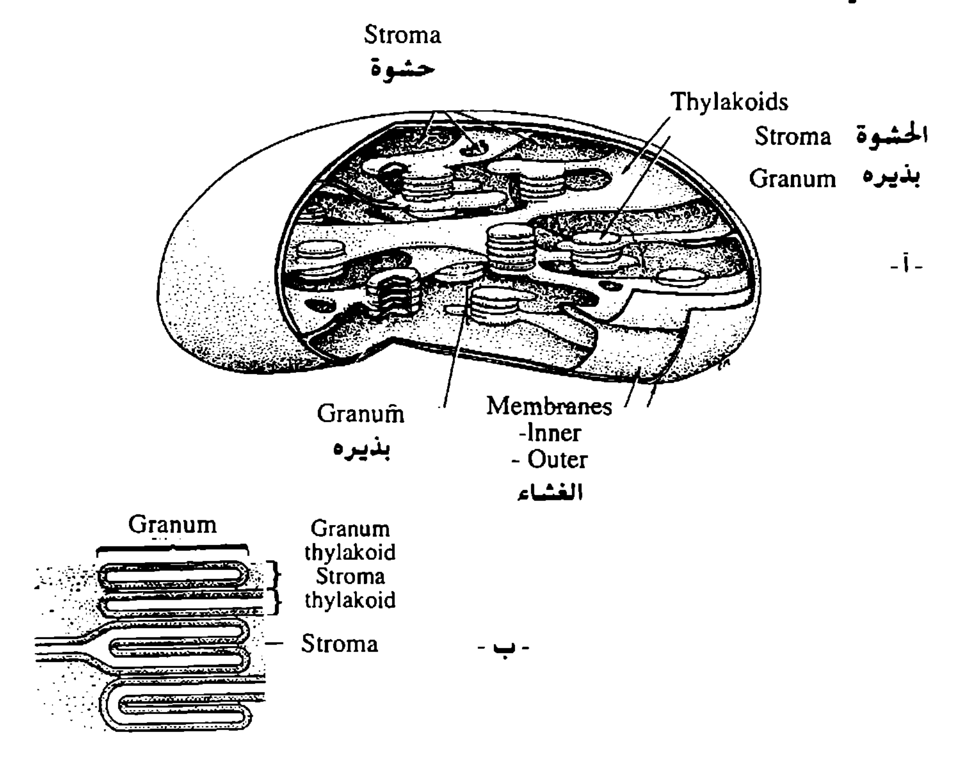
كما قد تنثني الطبقة الداخلية للغشاء البلازمي نحو الداخل بصورة اكثر تعقيداً مما لاحظنا سابقاً كما هو الحال في أنثناء الطبقة الداخلية للمايتوكوندريا لتأليف الاعراف المايتوكوندريه أو الانثناءات المعقدة الداخليه لغشاء البلاستيدات لتأليف البذيرات البلاستيدية .

تظهر المايتوكوندريا تحت المجهر الالكتروني مؤلفة من تركيب غشائي معقد مـؤلف من غـشـائين داخلي وخـارجي وكـلاهمـا يتـألف من نفس المكونات الكيميائية . ويظهر للغشاء الداخلي بروزات وطيات كثيرة يختلف عددها وشكلها من خلية الى اخرى تدعى هذه بالاعراف Cristae .

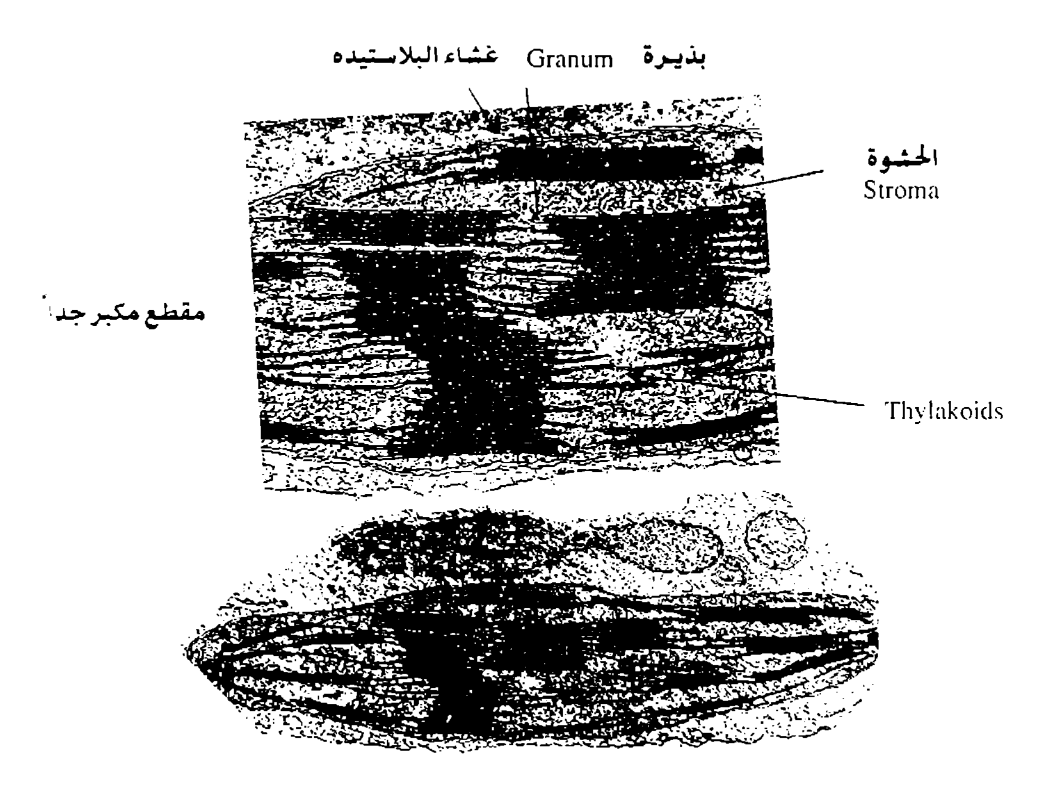
تظهر الاعراف تحت المجهر الالكتروني غير ملساء وتحتوي على نتوءات مؤلفة من ثلاثة أجزاء (راجع ما سبق في هذا الفصل) .

أما في الغشاء الداخلي للبلاستيده فأنه ينثني نحو الداخل مؤلفاً أغشية داخلية على هيئة صفائح Lamellae مرتبة بعضها فوق بعض معطية ما يعرف بالبـــذيره Grana وترتبط كل مجموعة بذيره مع الأخرى بأغشية متفرعة من الانثناءات الداخلية . وتعمل التحورات الداخلية في المايتوكوندريا والبلاستيدات على مساعدة هذه العضيات على القيام بعملية اطلاق الطاقة والتصنيع الضوئي بصورة اكثر كفاءة (شكل 4 - 16) .

لا يقتصر وجود التحورات في الغشاء البلازمي وغيره على ما سبق أو لأجل الوظيفة بل أن عمر الخلايا يعتبر عاملاً أخر له علاقة بهيئة الغشاء البلازمي وربما تركيبه . يبدو السطح الخارجي لاغلفة الخلايا الدموية الفتيه اكثر تجانساً وذو دقائق كثيره من الحديد مقارنة مع سطوح غير منتظمة فقيرة لدقائق الحديد في الخلايا الدموية الهرمة . ويظهر هذا الاختلاف في طبيعة الغشاء الخلوي واضحاً في الاداء الوظيفي وحركة الخلايا حيث تقل كفاءة الخلايا الهرمة وتصبح اكثر صعوبة في الحركة والانثناء في الاوعية الدموية الضيقة . وأضافة لما سبق فأن هناك العديد من التحورات الاخرى التي تظهر على الاغلفة الخلوية عند فحصها في المجهر الالكتروني (شكل 4 - 17) .



شكل 4 - 16 : مخطط لتركيب البلاستيدة موضحاً فيه دور الغشاء الداخلي للبلاستيدة في ظهور بذيرات البلاستيدات بينما يوضح المخطط (ب) تصور لترتيب الغشاء الداخلي لبناء البذيرات .



شكل 4 - 17 : صورة المجهر الالكتروني لبلاستيدة نباتية يظهر في الجزء المكبر العلوي منها ترتيب البذيرات والحشوة والاغشية المحيطة .

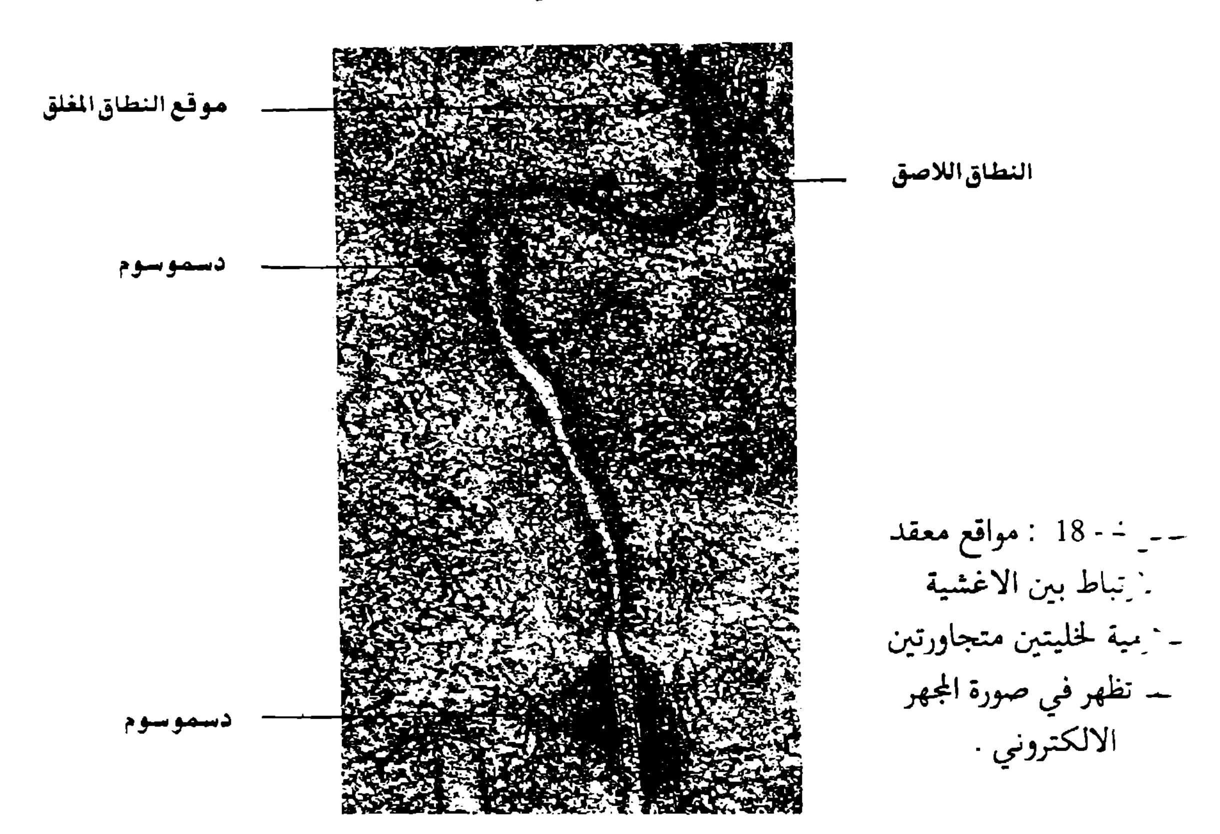
أرتباط الاغشية البلازمية في الخلايا المتجاورة :

تترتب الخلايا بشكل متجاور أو متجمع معتمدة على الاتصال فيما بينها والالتصاق مع بعضها البعض وعلى الرغم من عدم المعرفة التفصيلية لآلية الالتصاق بين الخلايا الا انه من المعروف الان بأن لآيونات الكالسيوم دوراً مهما في هذه العملية حيث أن معاملة الخلايا بمواد كيميائية مثل EDTA لازالة هذه الايونات يؤدي الى فصل الخلايا عن بعضها . كما أن المجهر الالكتروني أوضح وجود مواقع أرتباطات مختلفة القوة بين الخلايا . فالاجزاء الجانبية من الاغشية السايتوبلازمية المتجاورة تتصل مع بعضها بشكل كبير في بداية منطقة التجاور ثم لا تلبث أن تنفصل في مواقع أخرى تاركة فسحات واسعة بين الغشائين . كما

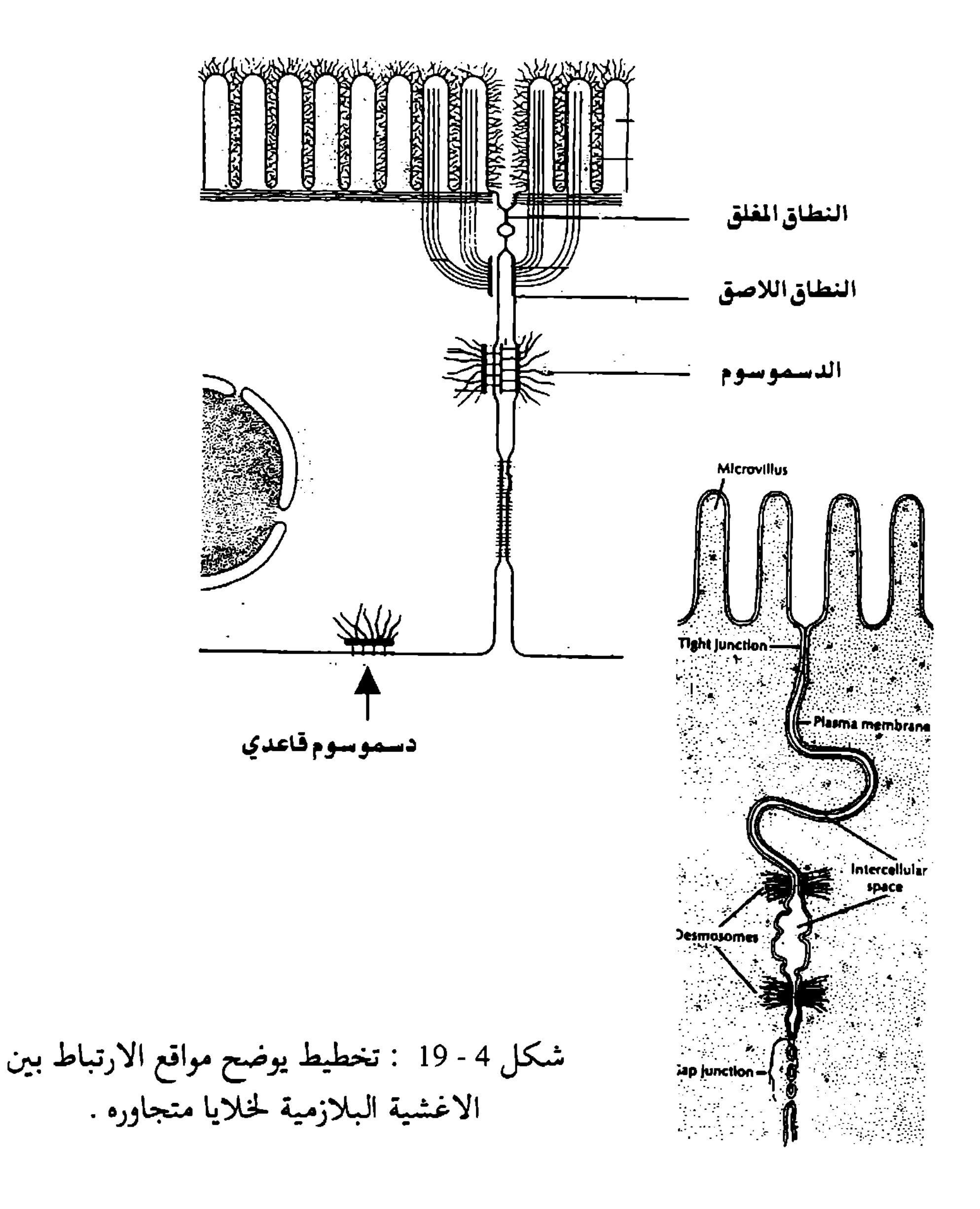
ـتـبـر صور المجهر الالكتروني بأن هناك فواصل وفراغات صغيرة في الاغشية المشتركة ـخلايا المتجاورة بحيث تسمح للخلايا بتبادل المواد وربما الاشتراك في السايتوبلازم .

ويبـدو بأن المواد السكرية التي تمثل مـفرزات الكأس السكرية ذات أهميـة في ـتصاق الخلايا حيث تبين بأنه يملأ الفراغات التي تتركها الاغشيـة البلازميـة ـتجاورة وهو بذلك قد يمثل مادة لاصقة بينهما .

لقد بينت الدراسات الجهرية التي أجريت على الخلايا الطلائية العمودية ـبطنة للامعاء أن هناك مواقع أرتباط معقدة بين أغشية الخلايا المتجاورة . وتمكنت هذه الدراسات من تمييز ثلاثة مواقع لهذا المعقد وهي النطاق المغلق Zonula Occludens أو موقع الارتباط القوي Tight Junction والنطاق اللاصق Zonula adhaerens والدسموسومات Desmosomes (شكلي 4 - 18 و 19) .



ـ - 18 : مواقع معقد ـرتباط بين الاغشية ـزمية لخليتين متجاورتين ـ تظهر في صورة المجهر الالكتروني .



شكل 4 - 19 : تخطيط يوضح مواقع الارتباط بين الاغشية البلازمية لخلايا متجاوره .

يبدأ معقد الالتصاق بين غشائين بلازميين متجاورين بأتصال جانبي من أعلى منطقة الاتصال بحيث يظهر الغشائين وكأنهما غشاء واحد أو حزام كثيف تلتحم فيه طبقات الغشائين ويظهر هذا الموقع تحت المجهر الالكتروني بسمك يتراوح بين 35 - 20 نانوميتر . وقد تظهر منطقة الاتصال أو الالتحام هذه على هيئة مستمرة لمسافة معينة او قد تنفصل في موقع أو موقعين ضيقين لا تلبث أن تتحد مرة أخرى .

وقد تحتوي منطقة الاتصال في بعض أنواع الخلايا على الياف او ما شابهها ممتدة الى السطح العلوي للخلايا المتجاورة .

تنفصل الاغشية البلازمية للخلايا بعد هذا الموقع ويحافظ كل غشاء على استقلاليته ويفصل بينهما فراغ بسعة حوالي 25 نانوميتر وتمتلىء هذه الفسحة بسائل سكري مشابه لمكونات الكأس السكرية . تمتد هذه المنطقة الى حوالي 450 نانوميتر تليها منطقة أخرى يستمر فيها الغشائين بالانفصال ولكنهما يرتبطان معاً بواسطة خيوط مستعرضة بروتينية تخترق طبقتي الجليكو بروتين للغشائين مؤلفة اجسام جسرية تدعى بالدسموسومات يبلغ طولها حوالي 250 نانوميتر . تظهر الدسموسومات كأجسام غامقة على كل من الغشائين المتجاورين ترتبط مع بعضها بواسطة الحزم الكثيفة للالياف البروتينية . وفي الخلايا الطلائية الحرشفية تظهر دسموسومات قاعدية تعمل على ربط الخلايا الطلائية مع الغشاء القاعدي الذي يقع تحتها .

وتظهر في بعض الخلايا المتجاورة تحورات بعد مواقع الدسوسومات يظهر فيها الاغشية البلازمية متقطعة تاركة فراغات صغيره متقطعة تمتد الى حوالي 30 - 40 نانوميتر يتمكن سايتوبلازم الخلايا من التماس عند هذه المواقع وتدعى هذه بموقع الارتباط الفاصلي Gap Junction . وأضافة لمواقع الارتباط السابقة فأن بعض الخلايا تمتلك آليات أخرى أو أضافيه للارتباط مع بعضها كما هو الحال في الخلايا المؤلفة للكبيبات البولية وبعض الخلايا الطلائية المعوية حيث تمتلك الاغشية البلازمية المتجاورة بروازات وأخاديد بحيث تتعشق أو تتداخل بروازات غشاء مع أخاديد الغشاء المجاور مع وجود مواد مخاطية لاصقة بينهما تزيد من أرتباط هذه الخلايا . كما تمتلك خلايا أخرى حواجز لاصقة متنوعة كما هو الحال في روابط البلازمودسماتا Plasmodesmtta في الخلايا النباتية .

وظائف الغشاء البلازمي :

كما سبق توضيحه بشأن تركيب الغشاء البلازمي وتنظيمه الجزيئي فأن الغشاء البلازمي دقيق جداً وحيث أنه يمثل الجزء الذي يرتبط او يتفاعل مع البيئة الخارجية

لذلك فأنه لا بد من وجود وظائف عديده له . لقد وجد من التجارب العلمية التي أجريت على الاغشية الخلوية بأنها ذات نشاط وظيفي فعال جداً لحياة الخلية علاوة على وظيفتها الاساسية في حماية الخلية . ويمكن أجمال وظائفه الرئيسية في النقاط التالية :

1 . أنتشار المواد من والى الخلية .

2 . نقل الجزيئات العضوية الكبيرة .

3 . الابتلاع الخلوي .

4 . الحركة .

5 . نقل الاشارات العصبية .

6 . أطلاق الطاقة .

7 . موقع لعديد من التفاعلات الانزيميه .

8 . تحرير المواد المنتجة داخل الخلايا .

أولا : أنتشار المواد Diffusion :

ينظم الغشاء البلازمي أنتشار الكثير من المواد التي تتحرك أعتماداً على تركيزها كما هو الحال في الماء والايونات والجزيئات المذابة . تنتشر المواد عبر الغشاء بطريقتين هما :

1 - الازموزية Osmosis

2 - الديلسة Dialysis.

ويلعب الغشاء البلازمي دوراً كبيراً في تنظيم هاتين العمليتين أعتماداً على قابليته أو قدرته حيث أنه ذو نفاذية أختيارية أو تفاضلية Selective Permaebility

الازموزية :

الازموزية هي عملية أنتشار جزيئات المذيب كالماء وغيره عبر الغشاء من

تركيزها العالي الى التركيز المنخفض . ونظراً لأن عملية الانتشار هذه تعتمد على عوامل فيزيائية لذلك فأن قدرة تحكم الاغشية على هذه العملية محدودة نوعا ما .

وتتوقف عملية الانتشار بعد وصول تركيز المحلول على جانبي الغشاء الى حالة التوازن الديناميكي حيث يصبح الضغط الازموزي خارج الغشاء مساوي لضغطه داخل الغشاء . ويمكن معرفة طريقة حصول الانتشار بأجراء تجربة بسيطة بأستخدام أغشية ذات نفاذية تفاضيلية .

الديلسة :

الديلسة هي انتشار جزيئات مذابة في الماء عبر الغشاء أعتماداً على نفاذية الغشاء . فعندما يكون الغشاء فعالاً ومنفذاً فأن الجزيئات المذابة تخترق الغشاء نحو الاتجاه الذي تريد بينما لا تستطيع نفس الجزيئات بالحركة عبر الغشاء عندما يكون غير منفذاً .

ومع ذلك فأن هناك العديد من الجزيئات التي لها القدرة على الانتشار الحر عبر الغشاء دون عائق كما هو الحال في أنتشار الغازات والكحولات والهيدروكربونات وجميع الجزيئات ذات القدرة على الذوبان في دهون الغشاء .

ثانياً : نقل الجزيئات العضوية الكبيرة الحجم Transport :

لا يقتصر نشاط الغشاء الخلوي على نقل الجزيئات الصغيره وتنظيمها بل أنه يتمكن من نقل الجزيئات الكبيرة أيضاً مثل جزيئات البروتين والسكريات وغيرها .

يقوم الغشاء بأدخال هذه الجزيئات أو أخراجها عن طريق ما يدعى بالنقل الفعال والنقل المُيسَّرْ Active and Facilitated transport .

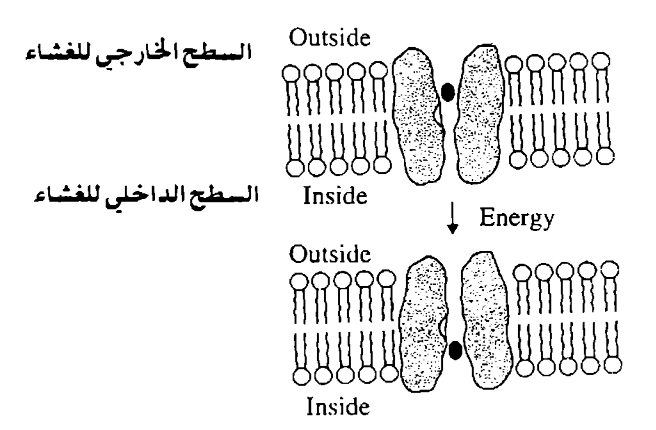
النقل المُيَسرْ Facilitated transport :

يحتوي الغشاء البلازمي كما وضحنا سابقاً على جزيئات بروتينية تقع ضمن الطبقات الدهنية وتخترقه في بعض الاحيان . لقد وجد بأن هذه الجزيئات مؤلفة

من جزئين متقابلين يفصل بينهما فسحة من الفراغ بينما تكون جزيئات بروتينية أخرى صلدة ومؤلفة من جزء واحد . تقوم هذه البروتينات بعملية النقل الميسر كما يعتقد حيث تقوم البروتينات المجوفة بأبتلاع الجزيئات الكبيرة والمطلوب نقلها وأمرارها عبر الفسحة الموجودة داخلها نحو الاتجاه الاخر .

بينما تقوم الجزيئات البروتينية الصلدة بالارتباط كيميائياً مع الجزيئات المطلوب نقلها ثم تتحرك مع حمولتها بالاتجاه الاخر مخترقة الغشاء البلازمي بطريقة الاستدارة بحيث تتبادل النهايات البروتينية بعد نهاية العملية وثم إطلاق الحمولة بالأتجاه الاخر .

ويلاحظ مما سبق بأن عملية النقل تتم دون الحاجة الى استهلاك كبير في الطاقة أو حتى دون صرف طاقة وقد تحتاج العملية الى أنزيمات معينة لغايات الارتباط والفك (شكل 4 - 20) .



شكل 4 - 20 : النقل الميسر الذي تقوم به بعض البروتينات الغشائية ويلاحظ بأن البروتين الناقل مؤلف من جزئين يفصل بينهما فراغ يتم خلاله نقل المواد المطلوب نقلها .

ـنقل النشيط Active transport :

تقوم جزيئات بروتينية غشائية بعملية نقل الجزيئات الكبيرة أو الصغيرة ـعكس تركيزها . كما يحصل في نقل أنواع من السكريات مثل الجلوكوز ـو جلاكتوز وغيرها (تستطيع هذه الجزيئات الانتقال عبر الغشاء بطرق متنوعة كـالانتشار والنقل الميسر وكذلك النقل النشيط) وكذلك نقل أنواعاً من الايونات ـمثل أيونات البوتاسيوم K^+ والكالسيوم Ca^{++} والصوديوم Na^+ والكلوريد Cl^- ـعكس تركيزها وفي الاتجاهين .

ويعتقد بأن عملية النقل النشيط التي تتم لهذه المواد يكون عبر وجود تراكيب ـمعينة مؤلفة من البروتينات والجلايكوليبيدات تدعى بالمضخات وتوجد أنواع ـمتخصصة منها في الغشاء بحيث يكون هناك مضخة للجلوكوز واخرى للصوديوم والبوتاسيوم وغيرها .

ونظراً لأن هذه المضخات تقوم بنقل المواد عكس تركيزها لذلك فأنه لا بد أن تصرف هذه المضخات طاقة حرارية لمواجهة الضغط الازموزي المعاكس .

أن التفاصيل الجزئية لعملية النقل هذه غير معروفة ولكنه وجد بأن أضافة مادة السيانيد الى كريات الدم الحمراء تعمل على أيقاف نقل الايونات عبر جانبي أغشية الكريات بعد وصولها الى حالة الاتزان الديناميكي . ويبدو بأن فقدان قدرة هذه الخلايا على بناء جزيئات الطاقة ATP بسبب السيانيد هو السبب في إيقاف عملية النقل النشيط للايونات .

ومع ذلك فلا يزال العديد من التفاصيل حول هذه العملية غائباً وغير معروف .

ثالثاً : الابتلاع الخلوي Endocytosis :

تتمكن العديد من أنواع الخلايا من الحصول على بعض أحتياجاتها من الماء وبعض المواد الغذائية بطريقة مختلفة عن الطرق السابقة . تتناول الكثير من الابتدائيات الوحيدة الخلايا والخلايا الدموية والاندوثيليه مواداً صلبه مثل

البروتينات والبكتيريا وكتل غذائية مناسبة أو سائله مثل الماء عن طريق الابتلاع الخلوي . ويمكن تمييز نوعين من الابتلاع أعتماداً على طبيعة المادة المبتلعة . فأبتلاع الماء يدعى بالشـــرب الخلوي Pinocytosis وأبتـلاع المواد الغـذائيـة الصلبـة يدعى بالالتـهـام الخلوي Phagocytosis وقد شوهدت كلتا العمليتين بوضوح تحت المجهر الالكتروني .

يقوم الغشاء البلازمي بهذه العملية لمواجهة الاحتياجات الطارئة لهذه المواد حيث تتمكن بالابتلاع بالحصول على كميات كبيرة من المواد تفوق ما تحصل عليه الخلايا بالطرق الاخرى .

تلتصق المواد في مادة الكأس السكرية المحيطة بغشاء البلازما ويعتقد بأن عملية الالتصاق هذه متخصصة وتلعب المواد التي تتركب منها طبقة الكأس السكرية دوراً مهماً في ذلك . فحامض السياليك واليورونيك والاسترات والسكريات المؤلفة للكأس السكرية ذات مجاميع كيميائية نشيطة ويعتقد بأن عملية الالتصاق التي تتم بين المواد الملتصقة وطبقة الكأس السكرية تتم عن طريق تبادل المجاميع أو السلاسل الكيميائية لمكونات الطبقة والمواد الملتصقة .

أما في حالة أبتلاع الماء فإن العملية لا تحتاج اكثر من أحاطة جزيئات الماء تدريجياً بغشاء البلازما .

الشرب الخلوي :

ينثني الغشاء البلازمي في موقع القطرات المائية المطلوبة نحو الداخل بحيث تندفع القطيرات الصغيرة بأتجاه الانثناء وتبدء بعدها نهايات موقع الانثناء بالارتفاع تدريجياً باتجاه بعضها حتى تلتقي . تتحد نهايات الغشاء البلازمي في موقع الالتقاء بحيث تتكون في النهاية فجوة مائية ملتحمة بالغشاء البلازمي الذي يقع فوقها بعد أن تلتحم نهاياته لا تلبث أن تتحرك الفجوة داخل السايتوبلازم . لقد وجد بأن حجم قطيرات الماء التي يمكن أبتلاعها بواسطة هذه الطريقة لا يتجاوز قطرها حوالي

2.5 نانوميتر .

لالتهام الخلوي :

يتم أبتلاع المواد الغذائية الصلبة كالبكتيريا او الجزيئات الغذائية الصغيرة نفس طريقة الشرب الخلوي حيث يحيط الغشاء البلازمي للخلايا الملتهمة الغذاء فقاعة غشائية مشتقة من الغشاء البلازمي تنطلق تدريجياً بعد أنفصالها عن لغشاء نحو السايتوبلازم .

تختلف أهداف الالتهام الخلوي أعتماداً على نوع الخلايا وطبيعة الهدف . فخلايا الطبقة الطلائية المبطنة للامعاء في منطقة اللفائفي تقوم بالتهام الجزيئات لبروتينية بنشاط وفعالية وتظهر هذه الخلايا تحت المجهر الالكتروني معبئة بالفجوات لغذائية بينما تقوم الخلايا المبطنة للاثني عشري والصائم بألتهام الدهون . تمرر هذه لخلايا غالباً محتوياتها من البروتينات والدهون والاملاح والفيتامينات وغيرها الى لخلايا التي تقع تحتها بعد أن تأخذ أحتياجاتها منها ، تنتقل بعدها هذه المواد الى لمجرى الدموي . كما تقوم الخلايا الطلائية المبطنة للاوعية الدموية بأخذ أحتياجاتها من البروتينات بطريقة الالتهام الخلوي .

في خلايا أخرى تمثل الفجوات الغذائية صهاريج لخزن هذه المواد لحين الحاجة اليها فيما لوحظ بأن بعض الخلايا تقوم بهضم موادها الغذائية المخزونة داخل الفجوات . ويمكن تمييز هذين النوعين من الفجوات الغذائية عن الفحص المجهري الالكتروني إذ تظهر الفجوات الخازنة كفقاعات ملساء بينما تحاط الفجوات الغذائية المخصصة للهضم بأعداد غفيره من الاجسام الحالة أو اللايسوسومات . ويبدو بأن هذه الاجسام تقوم بحقن الفجوة الغذائية بما تحمله من أنزيمات هاضمة لتحليل المواد الغذائية التي لا تلبث مركباتها البسيطة أن تنتشر الى السايتوبلازم .

كما تقوم بعض الخلايا بتخزين مواد الغذائية الملتهمة داخل السايتوبلازم كما هو الحال في خلايا البيوض التي تعمل على تخزين حبيبات المح داخلها . وقد

شوهدت الفجوات الغذائية ودرست بصورة كبيرة ومفصلة في خلايا الاميبا والخلايا الطلائية المبطنة للامعاء كما شوهدت في العديد من الخلايا الاخرى .

رابعاً : الحركة Mobility :

تستخدم الخلايا الاميبية مثل كريات الدم البيضاء الاميبية وحيوان الاميبا الاقدام الكاذبة في الحركة . الاقدام الكاذبة هي أمتدادات من غشاء البلازما يتحرك نحوها السايتوبلازم وتنتقل تبعاً لذلك الخلية الى موقع جديد بحركة نسبية .

وللحركة الأميبة أهمية بالغة لاداء الخلايا البيضاء الملتهمة لدورها المناعي في جسم الانسان . فبواسطة هذه الحركة تتمكن هذه الخلايا من أختراق الاوعية الدموية الشعرية والنفوذ الى الانسجة البعيدة علاوة على دور هذه الحركة في الاحاطة بالاجسام الغريبة والاقتراب منها في سبيل القضاء عليها .

خامساً : نقل الاشارات العصبية وغيرها Signals transport :

تتخصص بعض الاغشية البلازمية في أنواع من الخلايا في نقل الاشارات العصبية وتوليدها كما هو الحال في خلايا المؤلفة للعصي والمخاريط في شبكية العين وكذلك الخلايا العصبية الحسية وجميع الخلايا العصبية الاخرى .

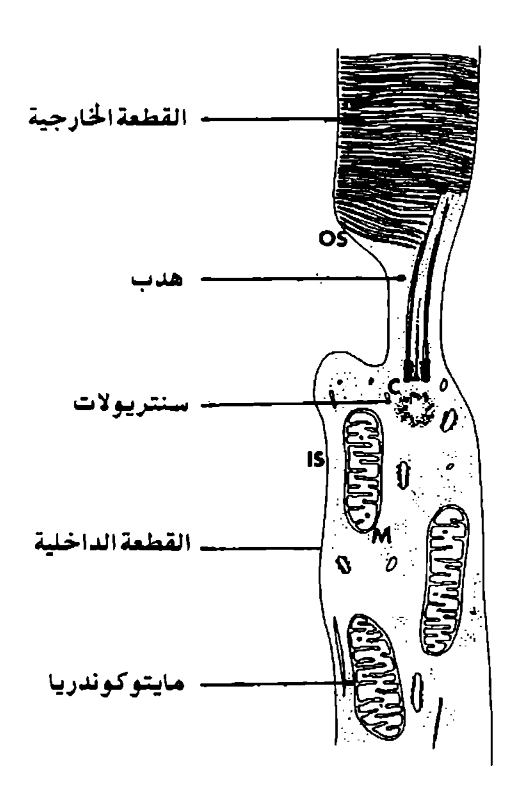
فمثلاً جزيئات الرودوبسين Rhodopsin البروتينية تمثل جزءاً من البروتين الداخلي للاغشية البلازمية للخلايا الحساسة للضوء المنتشرة في شبكية العين Retina . ففي الظلام سينطمر الرودوبسين حتى ثلثه في طبقة الدهون المزدوجة بينما ينطمر حتى نصفه عند أضاءة الخلايا . ويبدو بأن ذلك له علاقة كبيرة في تفاعلات كيميائية معينة لتحويل الضوء الى نبضة عصبية ذلك أن الرودوبسين هو صبغة الضوء الكيميائية في عيون معظم الفقاريات وبعض اللافقاريات . ويعتقد بأن هذه الصبغة تعمل على تحويل طاقة الفوتونات الضوئية الى نبضة عصبية تنتقل الى الدماغ . ويبدو بأن تغيير موقع الرودوبسين على غشاء البلازما للخلايا البصرية

في العيون له علاقة وثيقة في مثل هذه العملية .

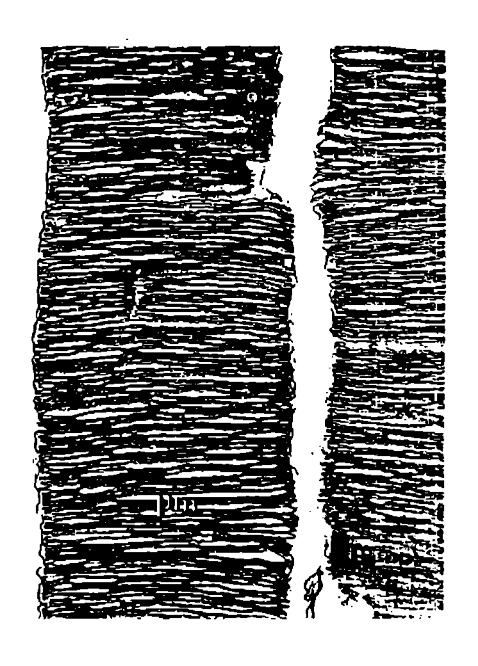
لقد بينت الدراسات المجهرية التي أجريت على الخلايا البصرية للعديد من الاحياء بأن لهذه الخلايا قطعة خارجية مرتبطة مع الغشاء البلازمي في الجهة المواجهة للضوء . ويظهر من صور المجهر الالكتروني لهذه القطع الخارجية بأنها مؤلفة من اكداس من الاجسام الصفائحية مرتبة واحداً فوق الاخر يفصل بينها مسافة صغيرة جداً . يختلف سمك هذه الصفائح الدقيقة حيث يظهر بأنها اسمك في خلايا العصي عما هي عليه في خلايا المخاريط . كما أن هذه الاكداس من الصفائح الدقيقة قد تنطمر قليلاً في طبقة دهون الغشاء البلازمي أو تطفو عليه ويبدو بأن جزيئات الرودوبسين الصبغية منتشرة على سطوح الصفائح الدقيقة بكثافات مختلفة بحيث تتوفر كثافات الكترونية ربما تكون متدرجة تساهم في تحويل طاقة الفوتونات الى نبضة كهربائية عصبية . وعلى الرغم من أن الآلية الكيميائية والجزيئية حول كيفية تحويل الفوتونات الضوئية الى نبضة كهربائية غير واضحة تماماً فأنا دور الغشاء البلازمي في الخلايا البصرية يبدو واضحاً ولا جدال عليه (أشكال 4 - 21 و 22 و 23) .



شكل 4 - 21 : صورة بالمجهر الالكتروني (X 20000) لعدد من العصي (خلايا بصرية) في شبكية عين الجرذ . وتلاحظ الطبقات التي تتألف منها القطعة الخارجية مرتبة فوق بعضها كما يظهر ذلك واضحاً في الصورة المكبرة (X200 PPM) في الزاوية السفلى .



شكل 4 - 22 : تخطيط لخلية عصى بصرية موضحاً عليه الاجزاء التي تظهر في صورة المجهر الالكتروني السابقة .



شكل 4 - 23 : صورة بالمجهر الالكتروني (X32000) للقطعة الخارجية للخلايا البصرية موضحاً فيها أكداس الاجسام الصفائحية المؤلفة لها .

أما في الخلايا العصبية فأن الغشاء البلازمي لها يعمل على نقل النبضات العصبية Nerve impulse عن طريق تغيير حالة الاستقرار الايوني فيه . فالغشاء البلازمي للخلايا العصبية في طور الراحة يكون مستقطباً وينشأ ذلك نتيجة توازن الشحنات الكهربائية على السطحين الداخلي والخارجي له بسبب توازن الايونات السالبة والموجبة على سطحي الغشاء . وتلعب مضخات الايونات الموجودة ضمن الغشاء البلازمي دوراً مهماً في أستقطاب وأزالة أستقطاب الغشاء .

فالخلية العصبية تحتوي على أيونات موجبة هي أيونات البوتاسيوم وبنسبة كبيره على السطح الداخلي لغشاء البلازمي وكذلك على نسبة ضئيلة من أيونات الصوديوم والكلور وتنعكس هذه النسب على السطح الخارجي للغشاء البلازمي حيث تكون نسبة أيونات الكلور السالبة والصوديوم الموجبة أعلى بكثير من أيونات البوتاسيوم . ونظراً لنفاذية الغشاء البلازمي فأن بعض أيونات البوتاسيوم الموجبة ستتسرب نحو السطح الخارجي حيث تزداد الشحنات الموجبة مما يشحن الغشاء من الخارج بشحنة موجبة وسالبة من الداخل وهو ما يجعل الغشاء البلازمي لهذه الخلايا في حالة أستقطاب وكنتيجة لاستقرار حركة الايونات .

تحصل النبضة العصبية نتيجة لازالة الاستقطاب عن الغشاء البلازمي ويتم ذلك بالاندفاع المفاجيء لايونات الصوديوم في موقع ازالة الاستقطاب على الغشاء مما يؤدي الى تغيير أو عكس الشحنات الكهربائية في هذا الموقع وعند حصول أندفاع أخر لايونات الصوديوم نحو الداخل في الموقع المجاور للموقع الاول تنعكس الشحنة الكهربائية في الموقع الثاني ويستعيد الموقع الاول شحناته الاصلية عن طريق طرد أيونات الصوديوم المندفعة نحو الداخل عن طريق مضخات الصوديوم وهكذا يتوالي ازالة الاستقطاب وأستعادته من موقع الى آخر عبر غشاء الخلية العصبية حتى أنتقاله الى خلية مجاورة .

كما تساهم أيونات البوتاسيوم أيضاً في أستعادة الاستقطاب عن طريق تسربها

من السطح الداخلي نحو السطح الخارجي للغشاء لزيادة تركيز الايونات الموجبة عليه . كما تساهم خلايا النخاع العصبي (النيوروجليا) في زيادة سرعة أنتقال النبضات العصبية خلال أغشية الخلايا .

ويبدو بأن هناك آليات مختلفة لاستثارة الخلايا العصبية وتحفيزها لنقل النبضات العصبية بسبب أختلاف المصادر الفيزيائية والميكانيكية كالصوت والضوء والضغط الميكانيكي والفيزيائي ومستوى الحموضة وغيرها ولا تزال أغلب هذه الاليات غير معروفة بصورة دقيقة .

سادساً : أطلاق الطاقة Energy releasing :

تقوم معظم الخلايا الحية بأطلاق الطاقة داخل سايتوبلازمها وداخل المايتوكوندريا . الا ان بعض الكائنات الحية مثل البكتيريا تفتقد المايتوكوندريا وغير موجوده فيها لذلك فأن الغشاء البلازمي لها يقوم بهذا النشاط . تتركز معظم الانزيمات التنفسية في البكتيريا في غشاءها البلازمي حيث ترتبط أنزيمات النقل الالكتروني مثل الفلافوبروتينات Flavoproteins والسايتوكرومات Cytochromes وبعض مركبات الكيونين في السطح الداخلي للغشاء البلازمي وتعمل على تفريغ مركبات الطاقة الوسيطة مثل المركب NADH و $FADH_2$ من الطاقة المخزنة فيها على هيئة جزيئات ATP وهي بذلك تحل محل المايتوكندريا .

سابعاً : أستقبال الاشارات Signals reciption :

يحتوي الغشاء البلازمي على الالاف من المستقبلات الكيميائية والمختلفة . بعض هذه المستقبلات ذو أهمية كبيرة في الحفاظ على حياة الخلية أو الخلايا .

فالخلايا المناعية في الجسم البشري على سبيل المثال لا تهاجم خلايا الجسم وتعتبرها خلايا ذات وليست خلايا غريبة . ويعود ذلك لابراز الخلايا الجسمية على سطوح أغشيتها البلازمية على بروتينات أو مستقبلات خاصة هي بمثابة الاشارة الخاصة على أنها خلايا ذات وليست خلايا غريبة . تدعى البروتينات المعرفة هذه

ببروتينات التطابق المناعي والنسيجي ولها أهمية كبيرة في رفض الاعضاء والانسجة في حالات الزراعة الجراحية مثل زراعة الكلى ونخاع العظام والقرنية وغيرها (شكل 4 - 24) .

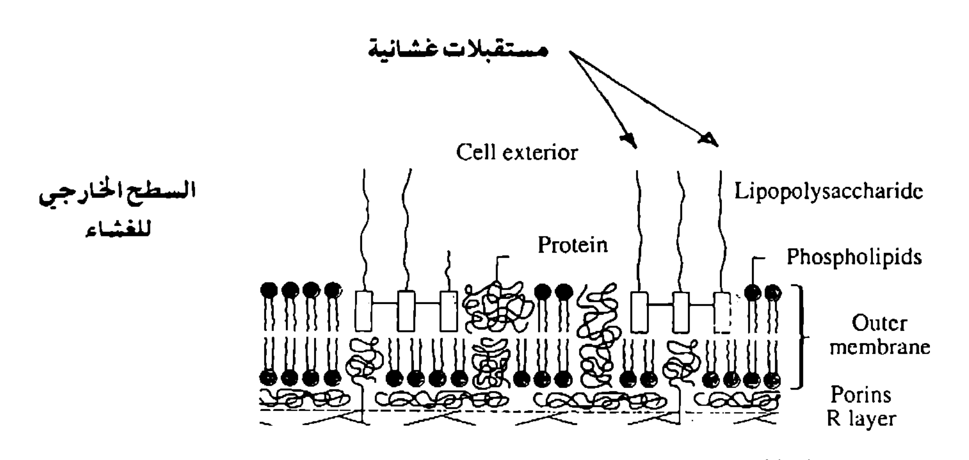
كما يحتوي الغشاء البلازمي على أنواع مختلفة من المستقبلات الخاصة بكل نوع من الخلايا تساعدها على القيام بوظيفتها . ويعتبر الغشاء البلازمي (السطح الداخلي والخارجي) ذو أهمية كبيرة في نقل الاشارات الكيميائية حيث تستقبل المستقبلات الغشائية الكثير من الجزيئات مثل جزيئات الهرمونات وغيرها ولهذه الجزيئات أهمية في تحضير الخلايا للقيام بعمل او نشاط أيضي معين . تنتقل الاشارة هذه الى الموقع المناسب لها داخل الخلايا عن طريق تكوين مراسلات ثانوية مثل الادنين أحادي الفوسفات الحلقي cAMP . تنشأ هذه المراسلات عن طريق تفاعلات كيميائية تجري على السطح الداخلي للغشاء البلازمي .

فمثلاً ينطلق المراسل الثانوي cAMP نحو السايتوبلازم بعد توليده على السطح الداخلي للغشاء البلازمي بعد تحويل جزيئة ATP بواسطة الانزيم ATPase الى جزيئة cAMP واضافة لذلك فأن الغشاء البلازمي بسطحيه الخارجي والداخلي يمثل نشاطاً كبيراً لاستقبال الجزيئات الحاثة او المحفزة وكذلك خلق ردود أفعال لها داخل الخلايا .

ثامناً : تحرير المواد المنتجة داخل الخلايا Eccytosis :

تنتج الخلايا الكثير من المركبات بعضها نافع ويتوجب أفرازه نحو الخارج كما هو الحال في أفراز الانزيمات والهرمونات من الخلايا الفارزة في الغدد . والبعض الاخر نواتج ضارة او زائدة غير نافعة يجب التخلص منها وأفرازها أيضاً خارج الخلايا .

لذلك فأن الغشاء البلازمي ليس له دور في تكوين المواد المفرزة ولكنه يلعب دوراً كبيراً في التخلص منها .



شكل 4 - 24 : المستقبلات الغشائية على السطح الخارجي للغشاء البلازمي .

يتم ذلك بعملية معاكسة لعملية الابتلاع الخلوي حيث يحيط الغشاء البلازمي المواد المطلوب أخراجها وثم طردها نحو الخارج . ينثني الغشاء البلازمي نحو الخارج في مواقع تجمع الفضلات أو المواد النافعة المطلوب تحريرها ثم يبدء الغشاء بأحاطتها بحيث يلتحم في موقع سفلي يقع تحت الفقاعة او الحويصلة الناشئة . تنفجر الحويصلات المتحررة بعد ذلك لاطلاق موادها أو تنتقل مع محتوياتها الى مواقع أخرى .

ويمكن مشاهدة العديد من الفقاقيع الناقلة المتحررة أو التي لا تزال مرتبطة مع الغشاء البلازمي عند فحص خلايا الغدد الهرمونية أو الانزيمية تحت المجهر الالكتروني .

وتظهر هذه الحويصلات أو الفقاقيع بأحجام مختلفة تبعاً لحجم حمولتها من المواد . ويمكن مشاهدة هذا النوع من النشاط في العديد من الخلايا مثل الخلايا الافرازية لغدد البنكرياس والغدد النخامية والغدد الدرقية والغدد الدهنية وغيرها .

الفصل الخامس

الاغلفة الخلوية

Cell envelops or Coats

مقدمة :

تغطى معظم السطوح الخارجية للخلايا بمواد مختلفة أضافية تنتظم هذه لتكون طبقة أو غلاف أضافي أو ربما عدة أغلفة وقد تكون غير منتظمة بشكل محدود . كما أنها قد لا تكون مستمرة على جميع سطح الخلايا . أن معظم هذه الاغلفة أن لم تكن جميعاً ذات أهمية وظيفية بالغة للخلايا وتتأثر الخلايا كثيراً عن أزالتها من سطح الخارجي .

يتراوح تركيب هذه الاغلفة من طبقة مخاطية بروتينية تنتشر فيها مجاميع حامضية وسكرية الى طبقه أو طبقات تختلف صلابتها أعتماداً على المواد المذابة فيها . لذلك نجد أن هذه الطبقة يمكن أن تكون مخاطية لزجة كما هو الحال في الطبقة الخارجية المخاطية للخلايا الطلائية في الامعاء والقنوات التنفسية وشبه صلبة كما هو الحال في الاغلفة المحيطة بالخلايا الغضروفية أو صلبة كما هو الحال في أغلفة الخلايا العظمية وأغلفة البكتيريا والفايروسات .

الاغلفة في الخلايا الحيوانية :

تغطي أسطح العديد من أنواع الخلايا الحيوانية بطبقة سطحية مؤلفة من بروتينات مخاطية وسكريات متعددة مخاطية سالبة الشحنة أضافة لوجود مجموعات حامضية خاصة مثل حامض السيالك Sialic acid .

تعتبر الطبقة المخاطية Glycocalyx التي تغطي الاسطح الحرة لخلايا الطبقة الطلائية السطحية للامعاء من أفضل مادرس وبحث في هذا الموضوع . تمثل هذه المواد طبقة مستمرة فوق زغابات الخلايا العمودية المعوية وتملأ الفراغات التي تفصل الزغابات عن بعضها .

تسمى هذه الطبقة أيضاً بالغطاء الزغبي Fuzzy coat وبينت الدراسات التي أجريت على هذه الطبقة بأستخدام النظائر المشعة بأنها طبقة مفرزة من الخلايا الطلائية وهي دائمة الافراز لتعويض هذه الطبقة . لقد بينت صور المجهر الالكتروني

بأن هذه المواد يمكن أن توجد بين الفراغات التي تترك بين الاغشية البلازمية للخلايا المتجاورة . تعتبر الطبقة المخاطية ذات أهمية كبيرة بالنسبة للخلايا . فهذه الطبقة تمثل حماية للخلايا التي تقع تحتها من الاضرار الكيميائية و الفيزيائية . لذلك فهي طبقة عازلة بين الخلايا المعوية وجزيئات الغذاء والانزيمات الهضمية والاحماض المعدية والبكتيريا وغيرها .

كما أن وجود هذه الطبقة يمكن أن يمثل حاجزاً أختيارياً يسمح لبعض المواد بالدخول للخلايا ويمنع أخرى من التماس مع غشاء الخلايا مما يجعل من هذه الطبقة ذات أهمية أيضية بالغة .

ويعتقد بأن الخصائص الانتقالية لسطح الخلية يعود الى غشاء البلازما وطبقة الكأس السكرية أو الغطاء الزغبي . فهذه الطبقة تتمكن من الارتباط مع العديد من الايونات مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم وتساهم أيضاً في تحرير منتجات الخلايا إضافة لوجود بعض الانزيمات التخمرية ذات الاهمية في تحليل السكريات .

لقد وجد بأن لهذه الطبقة أهمية مناعية أيضاً فقد لوحظ بأن إزالة هذه الطبقة من سطح خلايا اللمفوسايت يؤدي الى رفض خلايا الاندوثيل بالسماح لها في أختراق الاوعية الدموية نحوها . ويعتقد بأن ذلك ربما يعود لوجود مواد مناعية لها علاقة بالرفض المناعي .

كما تعمل هذه الطبقة على حماية القنوات التنفسية من الغبار والبكتيريا وغيرها حيث تلتصق بها لتعمل بعد ذلك على مساعدة الخلايا على التخلص منها وربما تحليلها .

تحاط أسطح بعض الخلايا بطبقة من مواد أخرى كما هو الحال في المادة الخلالية والكلسية التي تحيط بالخلايا الغضروفية والعظمية . تتألف المادة الخلالية المحيطة لخلايا الغضروف من مواد عضوية أهمها البروتينات والسكريات المخاطية المتعددة والدهون . توجد البروتينات أما بهيئة مواد غير ليفية أو ليفية ترتبط مع

المادة المخاطية الغضروفية وخصوصا سلفات الكوندريوين Chondroitin Sulphate . بينما تحتوي في الخلايا العظمية على أملاح غير عضوية أهمها فوسفات الكالسيوم . تعتبر هذه المواد أحد أفرازات الخلايا الغضروفية والعظمية ولها أهمية في أعطاء الصلابة والمرونة للانسجة الموجودة فيها .

أما الخلايا العصبية فأنها تستند الى خلايا طلائية تقع تحتها تدعى بخلايا الغــراء Neuroglia . تحيط هذه الخلايا أيضاً بمحاور الخلايا العصبية مؤلفة الجدار العصبي ويعمل بعض منها على ربط الخلايا العصبية الى الاوعية الدموية . تساهم الخلايا الطلائية الساندة كثيراً في نقل السيالات العصبية وتقديم الدعم الاسنادي للخلايا العصبية الرقيقة ولا يعتبر البعض هذه الخلايا كغلاف خلوي لانها ذات كيانات مستقلة وهو الصحيح .

تستند الخلايا الطلائية عادة على غشاء رقيق يظهر تحت المجهر كغشاء مستمر مزدوجة يدعى هذا الغشاء بالغشاء القاعدي Basement memberane .

يختلف سمك الغشاء القاعدي ويتراوح ما بين 15 - 50 نانوميتر حول الاوعية الدموية وعند حدود تماس البشرة مع الادمة حتى يبلغ 330 نانوميتر حول خلايا الكبيبات البولية في الانسان . يتألف الغشاء القاعدي من كولاجين أضافة لسكريات حامضية مختلفة ودهون .

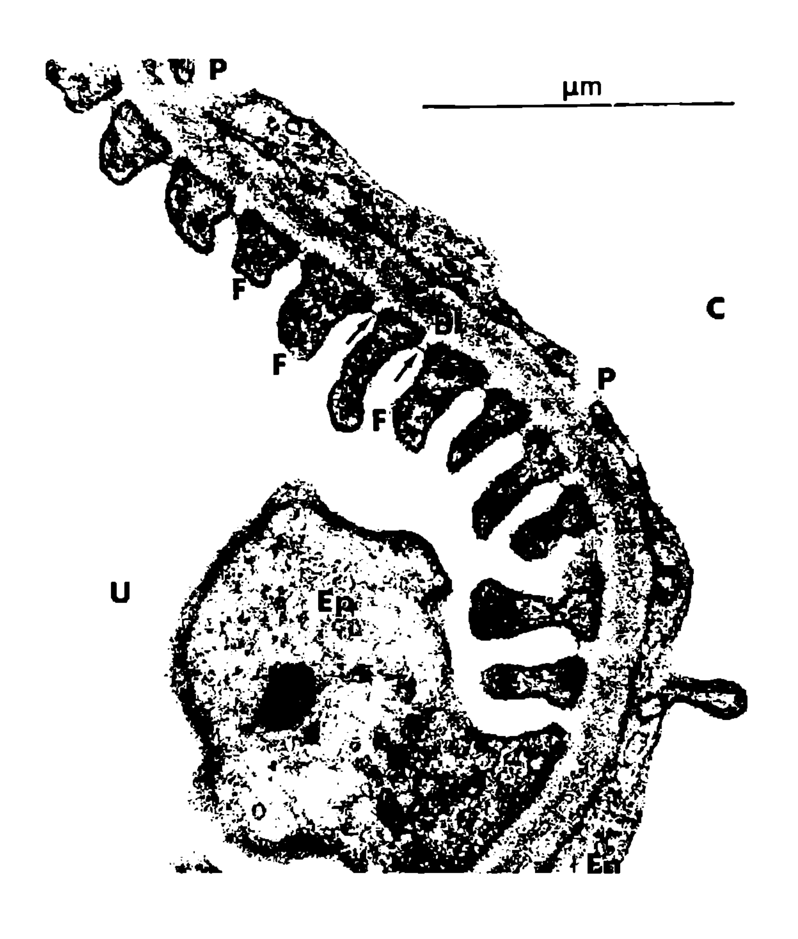
أن الفحص المجهري بأستخدام المجهر الالكتروني يوضح بأن الغشاء القاعدي في الحقيقة مؤلف من طبقتين الاولى ملامسة تماماً للغشاء البلازمي للخلايا تدعى بالصفيحة القاعدية Basal lamina مؤلفة من خيوط غير منتظمة دقيقة يبلغ سمكها بين 30 - 70 نانوميتر (في الخلايا الطلائية المعوية) وطبقة أخرى مؤلفة من الياف كولاجينية والياف رابطة . ويعتقد أن هذا الغشاء من مفرزات الخلايا الطلائية وله أهمية مناعية وأسنادية ووظيفية أيضاً .

بعض الخلايا الحيوانية من غير الطلائية مثل خلايا العضلات والدهنية

والخلايا العصبية المحيطية تحتوي على غلاف رقيق قد لايكون مستمراً ويختلف في تركيبه عن الصفيحة القاعدية والغشاء القاعدي ويدعى هذا الغلاف بالصحيفة الخارجية Extrnal laminae (الاشكال 5 - 1 و 2 و 3 و 4 و 5)



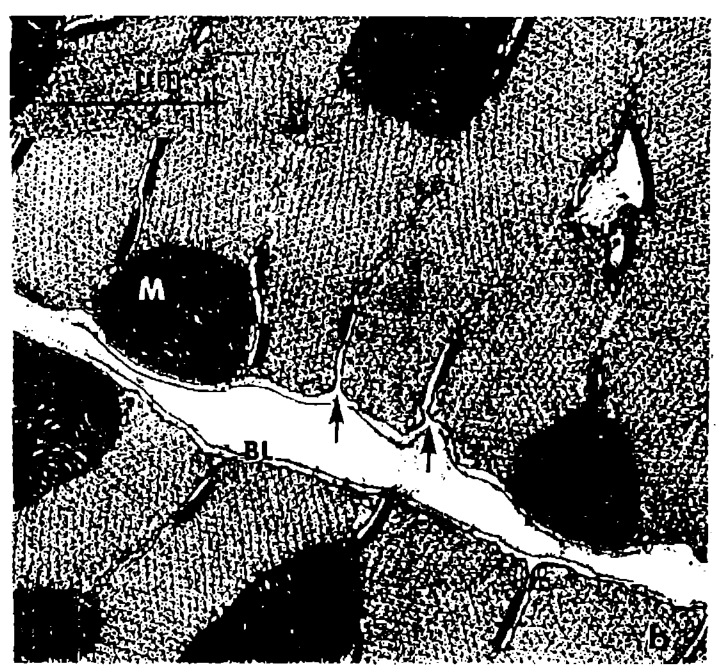
شكل 5 - 1 : صورة دقيقة بالمجهر الالكتروني لمقطع في حويصلة بومان مكبرة بقوة X 5100 وتظهر الصفيحة القاعدية (B) Basal lumina محيطة بعدد من الخلايا . U هو فراغ الحويصلات البولية .



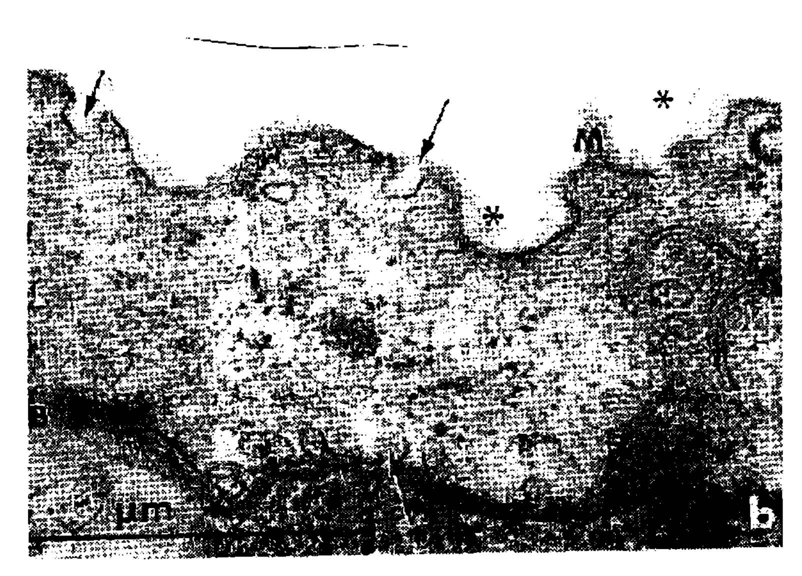
شكل 5 - 2 : صورة بالمجهر الالكتروني (X58000) لمقطع في حويصلة بولية لمحفظة بومان – كلية الفأر – وتظهر الصفيحة القاعدية (BL) تحيط بأغشية خلايا المحفظة البولية . U : فراغ الحويصلة و EP : خلية طلائية و F : زوائد Podocyte خلوية .



شكل 5 - 3 : صورة بالمجهر الالكتروني (X42000) لجزء من خلية دهنية صفراء يوضح الصفيحة الخارجية (L) والغشاء البلازمي (السهم) .



شكل 5 - 4 : صورة بالمجهر الالكتروني (X28000) لمقطع عرضي لعضلة جناح حشرة موضحاً عليها الصفيحة القاعدية (BL) . M : مايتوكوندريا . الاسهم توضح موقع أنثناء الغشاء البلازمي بين الخلايا المتجاورة .



شكل 5 - 5 : صورة بالمجهر الالكتروني (X 81000) لطبقة من الخلايا الطلائية (Se-rosal mesothelium) المغلفة للقفص الصدري والحجاب الحاجز والسطح الخارجي للرئتين موضحاً عليها الصفيحة القاعدية (B) . الاسهم تشير الى مواقع نشوء الفجوات المائية المستخدمة في الشرب الخلوي .

الجدار الخلوي Cell Wall :

يعتبر الجدار الخلوي الغلاف الرئيسي الذي يحيط بجميع الخلايا النباتية . يختلف تركيب الجدار الخلوي من نوع نبات الى آخر ويصل هذا الاختلاف حتى الى خلايا النوع الواحد . لذلك فأنه من الصعوبة الحديث عن صوره واحده لمكونات هذا الجدار (جدول 5 - 1) .

المركب	خلايا البلوط	خلايا الحنطة	خلايا عباد الشمس
السيليلوز	42	36	38
مواد بكتينيه	8	13	46
أنصاف السليلوز	38	30	8
اللكنين	-	-	8

ولكن وجد من تحليل جدران خلوية لخلايا مزرعة نسيجية لنبات -Acerp seudoplatanus بأن نسبة السكريات المتعددة البكتينيه والسيليلوز وأنصافه تمثل معظم مكونات الجدران الخلوية (جدول 5 - 2) .

بينت الفحوصات الجهرية التي أجريت على الجدران الخلوية لانواع مختلفة من الخلايا النباتية بأن هذا الجدار مؤلف من شبكة دقيقة من الالياف التي تقع ضمن حشوة تشبه الهلام تعمل على ربط هذه الالياف مع بعضها . وقد وجد بأن كل ليفة دقيقة مؤلفة من عدد من اللييفات الادق .

المكونات	٪ لوزن المكونات
أ - السكرياتا المتعددة البكتينيه	34
Rhamnogalacturonans	10
Homogalacturonan	6
Arabianan	9
Galactan and arabinogalactan	9
ب - أنصاف السيليلوزات	24
Xyloglucan	19
Glucuronarabinoxylan	5
جـ سليلوز	23
د - Hydroxyproline - rich glyco Protein	19

جدول 5 - 2 : مكونات الجدار الخلوي لخلايا مزرعة نسيجية لنبات Acerpseudoplatanus .

أوضح التحليل الكيميائي لمكونات اللييفات الدقيقة بأنها مؤلفة من سيليلوز وأن كل لييفة دقيقة مؤلفة من حوالي 2000 جزيئية سليلوز . وقد بينت تحاليل أشعة كس التي أجريت لللييفات بأن السليلوز المؤلف لها ذو غط بلوري يتكرر كل 1.03 نانوميتر على طول سلاسل السليلوز على أمتداد اللييفات . وقد تبين أن النمط البلوري السابق يعود لوجود وحدات متكررة من السيلوبايوز Cellobiose الذي يتألف من اتحاد جزئيين من البيتا – جلوكوز (شكل 5 - 6) .

تتألف الحشوة الهلامية الداخلية التي تحيط بشبكة الالياف الدقيقة من أنواع عديدة من السكريات المتعددة مثل اللكنين Lignin أضافة لنوعين آخرين من السكريات هما البكتين Pectin المؤلف من الجلاكتوز والارابينوز وحامض الجلاكتورونك وأنصاف السيليلوزات Hemicellulose التي تتألف من الجلوكوز والزايلوز والمانوز وحامض الجلاكتورونك .

شكل 5 - 6 : وحدة السيلوبايوز Cellobiose المتكررة في جزيئات السليلوز .

كما تحتوي بعض الجدران الخلوية على مواد كيوتكليه مثل شموع الكيوتين أضافة لاملاح معدنية مثل كاربونات الكالسيوم والمغنيسيوم والسليكات . أما في الخمائر وبعض الفطريات فأن جدارها الخلوي مؤلف في الغالب من الكايتين Chitin .

ينشأ الجدار الخلوي للخلايا النباتية بعد اكتمال نمو الخلايا النباتية الناشئة عن

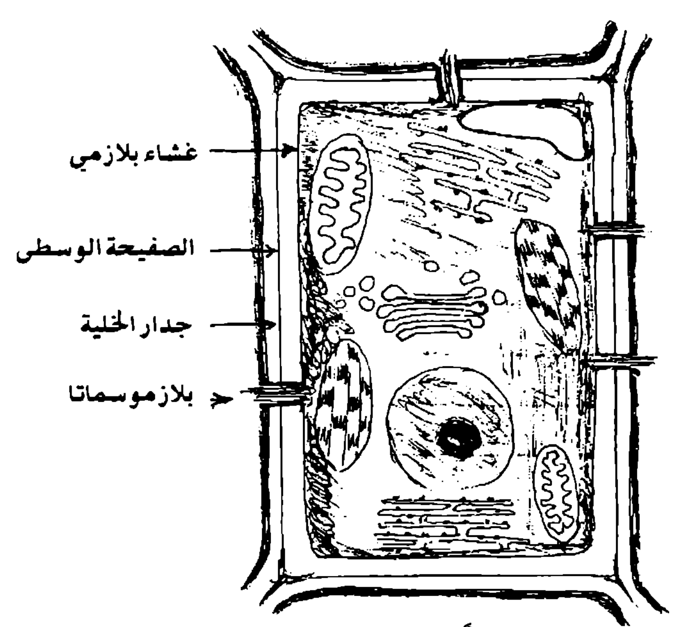
الانقسامات الخلوية ووصولها الى مرحلة النضوج ويظهر أولاً كصفيحة وسطية Middle lamellae عند أنفصال الخلايا الناتجة عن الانقسام تقوم بعدها الخلايا الجديده ببناءبقية الطبقات لتأليف الجدار الخلوي الاولي Primary cell wall من البكتين وأنصاف السليلوز وشبكة رخوة من الالياف السليلوزية . وعند اكتمال نضج الخلايا تبدأ بتكوين الجدار الخلوي الثانوي Secondary cell wall عن طريق أضافة مواد مثل أنصاف السليلوزات والسليلوز والبكتين الى سطح الجدار الخلوي الاولي (شكل 5 - 7) . يتم تصنيع السليلوز والمواد الاخرى المؤلفة للجدار الخلوي عن طريق حويصلات كولجي وبمساعدة من الغشاء البلازمي والشبكة الاندوبلازمية .

ففي الطحالب Algae تقوم حويصلات كولجي ببناء شبكة من الالياف الدقيقة المتشابكة طولياً ومحورياً وذلك بأستخدام مواد مثل حامض البيريودك Pe-riodic acid والفضة الحامضية Silver methenamine وبمساعدة أنزيم Glycosyl transferase تقوم حويصلات كولجي بعد ذلك بأفراز هذه المواد نحو السطح الخلوي الخارجي .

أما في النباتات الاخرى فأن مصدر السليلوز الرئيسي هو الغشاء البلازمي أضافة لدور حويصلات كولجي والشبكة الاندوبلازمية .

الخلايا النباتية مثل الخلايا الحيوانية ذات أرتباطات خلوية وتعتمد الخلايا النباتية في هذا الارتباط على وجود البلازمودسمات Plasmodesmatas . تمثل هذه جسوراً تمتد عبر الغشاء البلازمي والجدار الخلوي للخلايا المتجاورة وهي عبارة عن أنيبوبات دقيقة يتم بناؤها من الشبكة الاندوبلازمية تعمل على تبادل الايونات والجزيئات الكبيرة والماء وغيرها . ويساهم ذلك في أبقاء الضغط الازموزي داخل الخلايا عند الحدود المناسبة للحياة .

وعلى الرغم من وجود هذا الارتباط بين الخلايا الا أن الغلاف الخلوي أو الجدار الخلوي يلعب دوراً مهماً في الحفاظ على شكل الخلايا إذ يمثل هذا الجدار هيكلاً لهذه الخلايا ويساهم أيضاً في الحفاظ على الضغط الازموزي داخلها .



شكل 5 - 7 : مخطط لخلية نباتية موضحاً عليه الغشاء البلازمي والصفيحة الوسطى والجدار الخلوي .

الاغلفة البكتيرية Bacterial envelope :

تحاط البكتيريا بمجموعة من الطبقات أضافة للغشاء البلازمي تمثل جميعها غلاف الخلية .

تمثل الميسوسومات Mesosomes وهي عبارة عن طيات من الغشاء البلازمي تمتد نحو السطح الداخلي له الغلاف الاول الذي يلي الغشاء البلازمي . تظهر هذه الطيات في مناطق معينة وغير متخصصة من الغشاء البلازمي . كما لا يمكن ملاحظتها في جميع أنواع البكتيريا بل تظهر في أنواع البكتيريا الموجبة لصبغة جرام . تساهم هذه الطيات في زيادة المساحة السطحية لغشاء الخلية أضافة لدورها في تكوين الجدران المستعرضة أثناء الانقسام . كما قد يكون لها أدوار أخرى غير معروفة لحد الان . يلي الغشاء البلازمي من الخارج جدار تتميز به جميع أنواع البكتيريا بأستثناء المايكوبلازما يدعى بجدار الخلية Cell Wall .

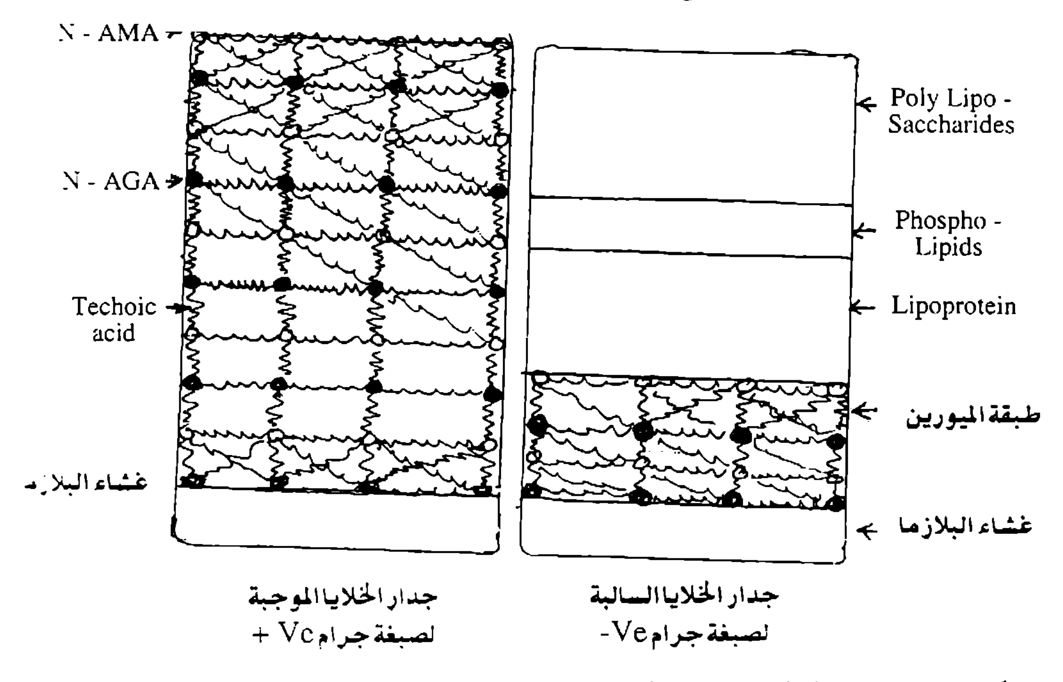
يتألف هذا الجدار من عدة مركبات كيميائية أهمها الميورين Murein وهو متعدد جلايكوني Peptidoglycan مؤلف من وحدات متبادلة من نوعين من

الكربوهيدرات الامينية هما N-acetyl glucosamine و N-acetyl muramic acid .

تترتب هذه الوحدات بشكل طبقات متتالية متصلة مع بعضها في جسور من الحامض الاميني تكويك Teichoic acid . يختلف سمك هذا الجدار وكذلك تركيز حامض التكويك بين البكتيريا .

ففي البكتيريا السالبة لصبغة جرام تكون طبقة متعددة الجلايكون رقيقة وتحتوي على نسبة قليلة جداً أو منعدمة من حامض التكويك أضافة لوجود طبقة من السكريات المتعددة الدهنية Lipopolysaccharids ودهون مفسفرة وبروتينات دهنية .

أما في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام فأن طبقة متعددة الجلايكون تكون سميكة وتتميز بوجود تركيز عالي من حامض التكويك وأختفاء طبقة السكريات المتعددة الدهنية وغيرها (شكل 5 - 8) .

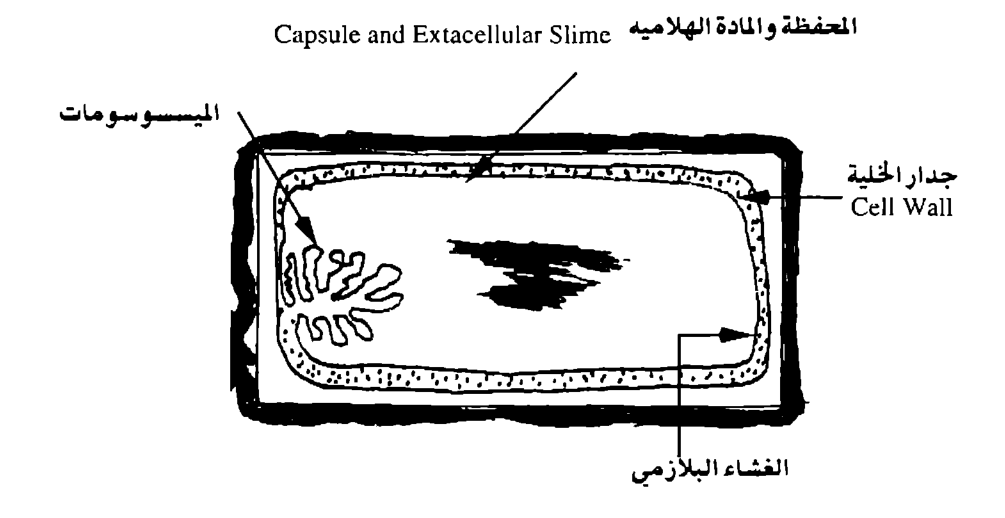


شكل 5 - 8 : تخطيط لتركيب الجدران الخلوية في البكتيريا السالبة والموجبة بصبغة جرام .

تحاط جدران الخلايا البكتيرية الخارجية بطبقة جلاتينيه سميكة تصبح لزجة في محيطها الخارجي وتظهر عند صبغ الخلايا بالحبر الهندي على شكل كتل سوداء محيطة بالبكتيريا .

يختلف تركيب الطبقة الجلاتينية ومادتها اللزجة Capsule Extracellular slime . أعتماداً على نوع البكتيريا . ففي بعض أنواع البكتيريا تكون مؤلفة من الكاربوهدرات فقط أو الكاربوهيدرات (سكريات متعددة) والبروتينات معاً .

تعمل أغلفة البكتيريا على حمايتها من الانزيمات والالتهام وتساعدها على بناء مستعمرات متماسكة (شكل 5 - 9) .



شكل 5 - 9 : غلاف الخلية البكتيرية Cell envelope بطبقاته المختلفة .

الاغلفة الفايروسية Viral envelopes :

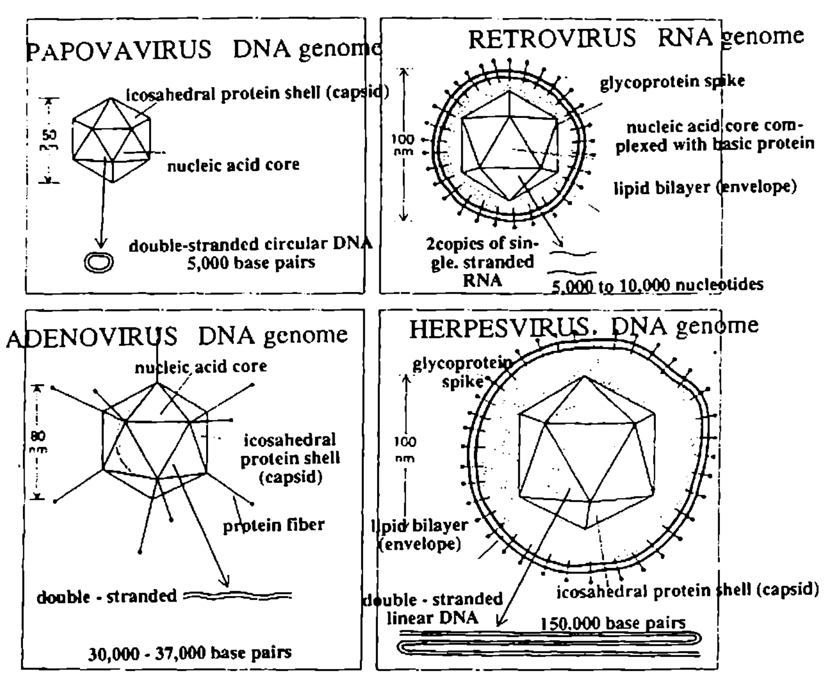
تختلف الفايروسات في كثير من مظاهرها عن الاحياء الاخرى ذلك أنها عبارة عن بلورات فاقدة لمظاهرة الحياة خارج مضائفها ولا تحتوي على سايتوبلازم أو عضيات سايتوبلازمية الا أنها تحتوي على مادة وراثية محاطة بغلاف أو عدة أغلفة .

يدعى الغلاف الذي يحيط بالمادة الوراثية بالكابسيد Capsid ويتألف من وحدات متكررة صغيرة تدعى بالكابسوميرات Capsomers . تتألف وحدة الكابسيد من البروتين ويختلف نوع البروتين المؤلف لها تبعاً للمجموعة الفايروسية وقد تشترك عدة أنواع من البروتينات في تأليف الكابسومير .

وقد تحتوي بعض الفايروسات بالأضافة للكابسيد على غلاف أضافي Envelope مؤلف من مركبات كاربوهيدراتيه و بروتينيه ودهنية . تبرز من الاسطح الخارجية لاغلفة الفايروسات نتوءات أو بروزات تدعى بالسبيكس Spikes مؤلفة من معقدات كاربوهيدراتية بروتينية تمثل هذه مواقع تآصر الفايروسات مع مستقبلات الخلايا المضيفة (شكل 5 - 10) .

تختلف طريقة نشوء الاغلفة في الفايروسات . فبعض الفايروسات تعمل على تكوين وبناء أغلفتها داخل الخلايا المضيفة ثم يتم بعدها تعبئة المواد الوراثية للفايروس داخل هذه الاغلفة كما هو الحال في الفايروس M13 ولامبدا (تصيب البكتيريا) وفايروس الجدري Poxivirus وفايروس الايدز AIDS وغيرها .

فيما تقوم فايروسات أخرى بالحصول على غلافها عن طريق أنفصال جزء من غشاء البلازما للخلايا المصابة أثناء أختراقها الخلايا نحو الخارج واستعماله بعد التحوير كغلاف لها أضافة للكابسيد الذي يتم بناؤه داخل الخلايا كما يحصل في فايروسات الباراماكسو Paramyxo Vs. وفايروسات التوجا Toga Vs. والفايروسات المغلفة عموماً .



شكل 5 - 10 : أنواع وأحجام مختلفة من الفايروسات ويلاحظ فيها أنواع الاغلفة الفايروسية .

ملحقات الاغلفة الخلوية :

تحتوي أسطح العديد من أنواع الخلايا على ملحقات مثل الاهداب والاسواط والذيول وغيرها من الزوائد .

ففي العديد من الخلايا الاولية هناك زوائد هدبية تظهر الى خارج الخلايا وتستمر على طول السطح الخارجي وتستخدم غالباً في الحركة .

أما في الخلايا الطلائية المبطنة لجدار الامعاء الداخلي والقنوات التنفسية فأن هذه الاهداب تنتشر على السطح الخارجي المواجه لفراغ الامعاء والقنوات التنفسية فقط وتستخدم في تحريك السوائل الغذائية أو طرد الغبار والبكتيريا التي تدخل في الجهاز التنفسي . أما الاسواط التي يمكن مشاهدتها في الحيوانات وحيدة الخلية مثل الكلاميدوموناس والبكتريا فأنها أما أن تكون مفردة أو زوجية .

كما قد تنتشر بهيئة حزم من الاسواط في قطب واحد أو في قطبي الخلية أو تنتشر على كافة سطح الخلايا . بينما يمكن ملاحظة الذيول في الحيوانات المنوية التي تكون غالباً مفردة تساعد هذه الخلايا على الحركة والمساعدة في عملية الاخصاب .

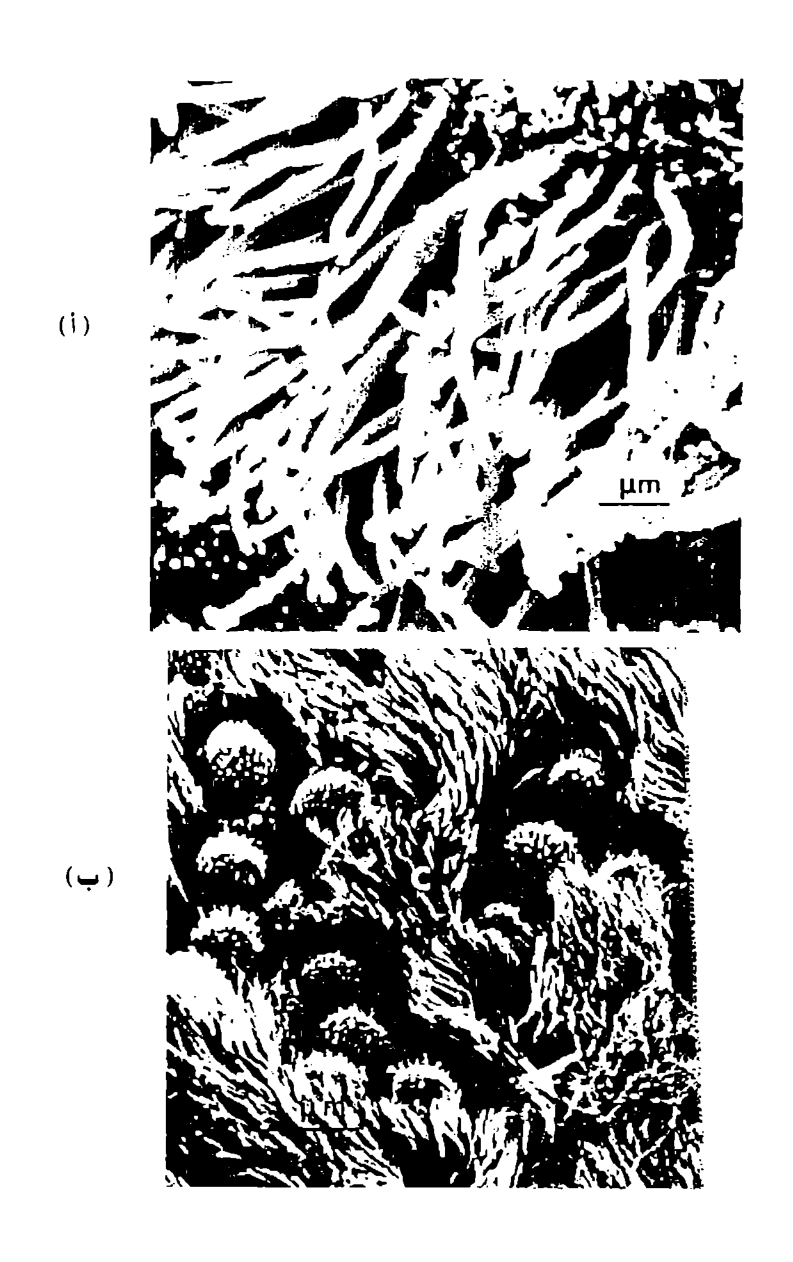
يختلف التركيب المجهري للزوائد الغلافية السابقة (شكل 5 - 11) . فالاهداب والاسواط تنشأ من حبيبات قاعدية Basal bodies أو Kinetosome فيما تنشأ الذيول بطريقة مختلفة وتشتق من الغشاء البلازمي في الغالب .

يظهر التركيب المجهري لمقطع عرضي في الهدب أن كل هدب مؤلف في الحقيقة من عدد من الانيبوبات الطولية عددها 9 - 12 زوجاً أضافة لوجود زوج مركزي (شكل 5 - 12) . يوضح المقطع العرضي للهدب بأن كل أنيبوب مؤلفة من لب شفاف محاطة بحلقة داكنة يبلغ سمكها حوالي 6.5 نانوميتر بينما يبلغ قطر الحلقة حوالي 25 نانوميتر .

تمتد أنيبوبات الهدب نحو السايتوبلازم وترتبط في قاعدتها مع الصفيحة القاعدية والجسم القاعدي وتقع هذه تحت الجدار الخلوي . وتظهر الصفيحة القاعدية مؤلفة من صفوف متوازية من التراكيب . وتبرز أنواعاً دقيقة من الالياف المستعرضة والاسطوانية من الصفيحة القاعدية بأتجاه أنيبوبات الهدب بحيث تعمل على ربط هذه الالياف مع بعضها ومؤلفة تركيباً يشابه غمد الشعره ويمتد منه جدار يغطي الهدب جميعه بأتجاه الخارج ونحو نهاية الهدب . ويبدو بأن الصفيحة القاعدية وملحقاتها تمثل جذوراً لكل هدب وتنتشر بالقرب منها عادة إعداد من المايتوكندريا . ويوضح التركيب الكيميائي للاهداب والاسواط بأنها مؤلفة غالباً من البروتين الذي يمثل في الاساس تركيب الالياف بينما تنتشر الكاربوهيدرات والدهون في تركيب غمد وجذيرات الاهداب وكذلك غطاء أو غلاف الاهداب .



شكل 5 - 11 : صورة بالمجهر الالكتروني (X 150000) لمقطع عرضي لمجموعة من الاهداب التي تبين أنها مؤلفة من أزواج من الأنيبوبات الطولية المحيطية أضافة لزوج مركزي . كما يلاحظ الارتباطات بين الالياف الطولية وكذلك غلاف كل هدب .

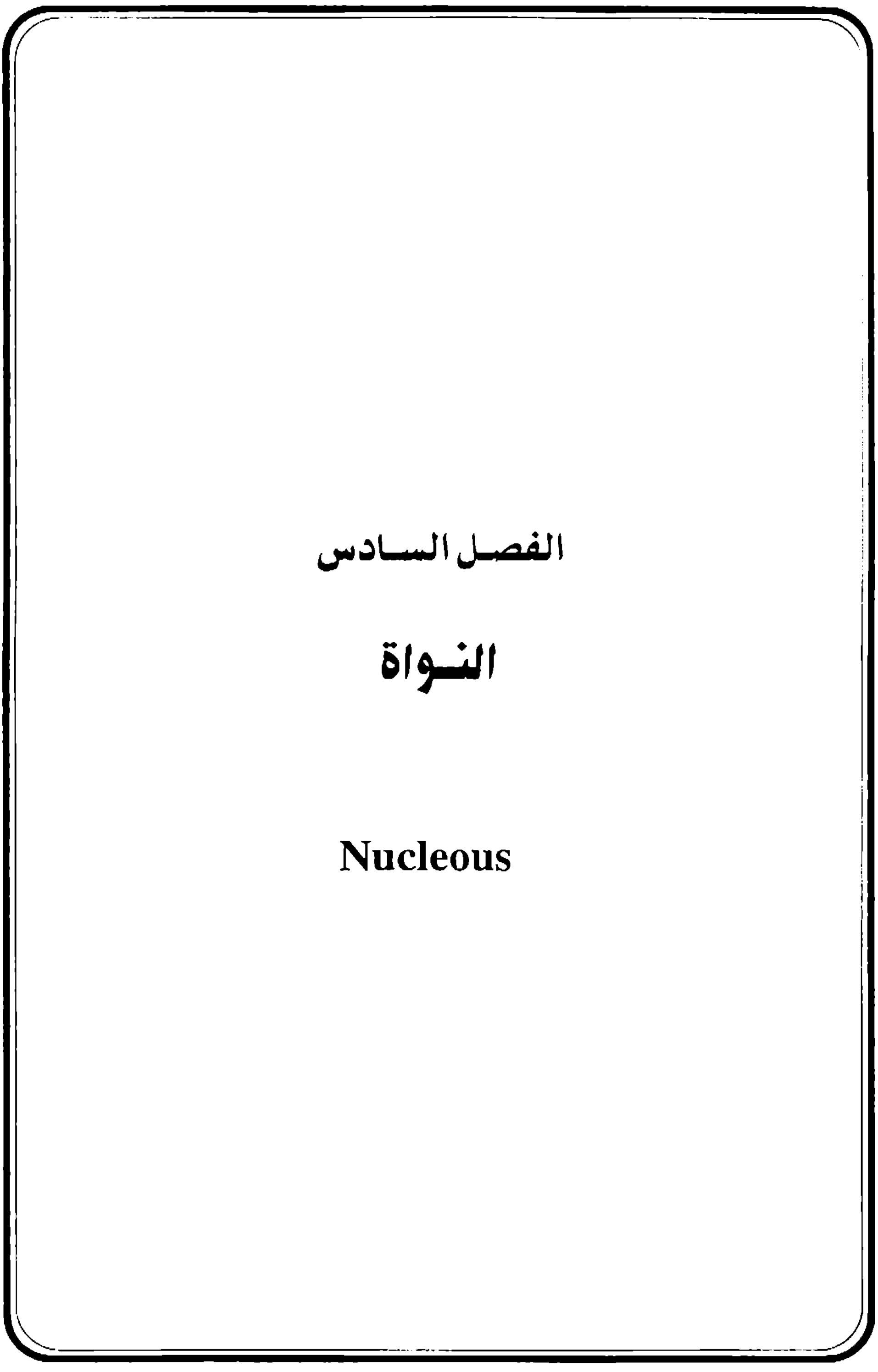


شكل 5 - 12 : صورة بالمجهر الالكتروني تمثل الاهداب على سطح الخلايا الطلائية لبطانة القناة الهضمية (ب) (X 11000) والخلايا الطلائية لبطانة القصبة الهوائية (أ) (X 3500) .

يتشابه تركيب السوط مع تركيب الاهداب تقريباً حيث يظهر المقطع العرضي للسوط بأنه مؤلف من أثنين من الالياف المركزية وتسعة أزواج من الالياف المحيطة . وللسوط غمد وقاعدة وغلاف كما للاهداب . وكذلك تتميز قاعدته بوجود عدد من المايتوكوندريا بالقرب منها . كما توجد بعض الاهداب والاسواط مؤلفة من الياف طولية ثلاثية .

تشترك الاهداب والاسواط والذيول في وجود الالياف المركزية والمحيطية الا أن التراكيب الاخرى تظهر اكثر تعقيداً في ذيول الخلايا عما هو عليه في الاهداب والاسواط . فالذيول تبدء من قواعد صفيحية تقع بالقرب من نوى الحيوانات المنوية وتحاط في جزء منها بالغشاء البلازمي والسايتوبلازم أضافة للاغلفة الاخرى الخاصة بالذيل . كما توجد المايتوكوندريا بهيئة مميزة في بعض الذيول حيث تلتف بشكل حلزوني حول محور الذيل . كما تتحور نهايات ذيول بعض الحيونات المنوية على هيئات مختلفة كما في الانشطار الرباعي الشريطي لنهاية ذيول الحيونات المنوية لذكور النطاط (جراد) .

وأضافة لما سبق فأن هناك العديد من الاختلافات التركيبية بين أهداب أو أسواط أو ذيول الكثير من الخلايا .



الفصل السادس

النواة

Nucleous

مقدمة :

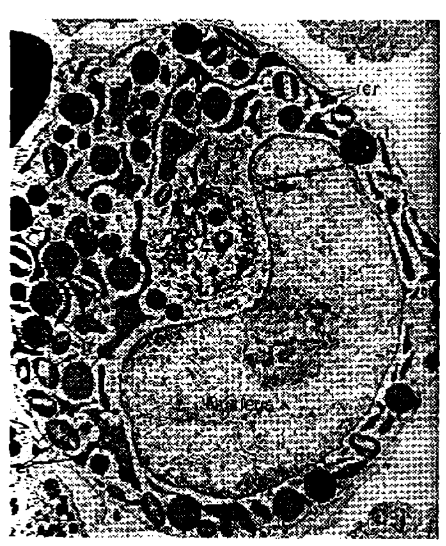
تتميز جميع خلايا الاحياء الحقيقية النـواة ـ بأستثناء كريات الدم الحمراء عند الانسان وكذلك صفائحه الدمويه ـ باحتواءها على نواة متميزة واضحة .

تشغل النواة عادة موقعاً مركزياً في الخلايا يتيح لها إدارة الفعاليات الايضيـه بصورة كفـوءة ولكن يمكن مـشـاهدتهـا في أحـد أقطاب الخليـه أو على الحـافـات الداخلية لبعض الخلايا ويتحكم في ذلك وجود فجوات عديده أو فجوة كبيره كما هو الحال في الخلايا الدهنية حيث يكون السايتوبلازم والنواة على حافات الخلايا . أما في الخلايا العضليه الهيكليه والقلبيـه فأن النوى تقع بالقـرب من الاغشيـه البلازميـه بسبب وجود الالياف العضليه الكثير في سايتوبلازمها .

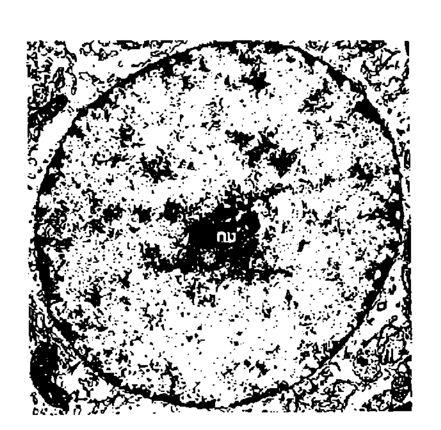
يغلب الشكل الكـروي على نـوى مـعظـم الخـلايـا ولكن يمكـن أن تشـاهد أشكال أخرى .فـمـثـلاً في خـلايا العـضـلات الملسـاء والخـلايا الطلائيـه المبطنـه للامعـاء وغيرها تكون النوى على شكل بيضوي فيما تكون على هيئات مفصصه في خلايا الدم البيضاء . كما قد تأخذ أشكالاً حويصليه ومتكتله وكلويه (أشكال 1_6 و 2 و 3 و 4) . تمتلك معظم الخلايا نواة مفرده . الأأن بعض الخلايا تحتوي على أكثر من ذلك فبعض الخلايا الكبديه لبعض اللبائن تحتوي على نواتين متشابه . كما يوجد مثل هذه النوى في خلايا أحياء أخرى مثل خلايا الامعاء الوسطى في الحشرات . وقد تكون النواتين غير متشابهه كما هو الحال في نوى الابتدائيات مثل البراميـسيـوم مع أن بعض هذه الأحيـاء عـديدة النوى . وقد يبلغ عـدد النوى في بعض الخلايا حداً كبيراً مثل ما هو موجود في خلايا العضلات الهيكليه الذي قد يصل الى 100 نواة .

أن تعـدد النوى في بعض الخلايا قد يقتـرن مع مرحلة معينه من مـراحل تطور الخلايا حيث لا تلبث هذه أن تفـقـد مـعظم نواها وتحتـفظ بنواة واحـدة . وغالبـاً مـا يكون تعدد النوى قاصراً على المراحل الجنينية .

يتراوح حجم النواة بين 3_25 مايكرومتر وبسبب الطبيعية القاعدية لها لوجود الاحماض النووية والبروتينات الهستونيه فأنها تصطبغ باللون الاحمر .



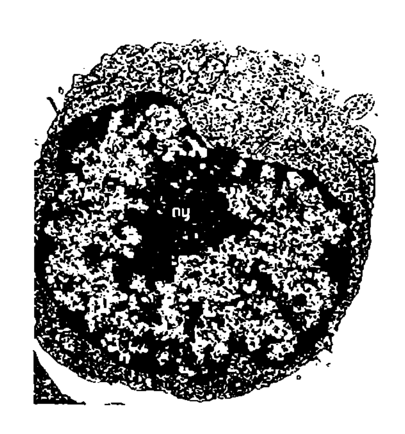
شكل6_1 : خلية دم بيضاء بنواة كلوية الشكل ونوية دائرية مركزية .



شكل6_2 : نواة دائرية الشكل لخلية كبدية ويشاهد في مركزها النوية . كما يظهر الغشاء النووي المزدوج واضحاً والكروماتين بأنواعه .



شكل 6_3 : خلية دم حمراء في المراحل الاولية بنواة ذات شكل خاص ومميز ونويه بيضوية تقريباً .



شكل 6_4 : خلية لمفاويه من نخاع العظم بنواة ونوية مميزه مع وضوح كامل للكروماتين .

الغلاف النووي Nuclear envelope :

تفصل النواة عن السايتوبلازم بغلاف نووي Nuclear envelope مؤلف من غشائين غير مستمرين هما الغشاء النووي الخارجي Outer nuclear membrane الذي يواجه سطحه الخارجي السايتوبلازم والغشاء النووي الداخلي Inner nuclear membrane الذي يواجه سطحه الداخلي العصير النووي Nuclear sap .

يظهر سطح الغلاف النووي المواجه للسايتوبلازم عند فحصه بالمجهر الالكتروني خشناً ويحتوي على ريبوسومات وخصوصاً في المناطق القريبة من مواقع أرتباط الغلاف النووي مع الشبكه الاندوبلازمية الخشنة (شكل6_5) .

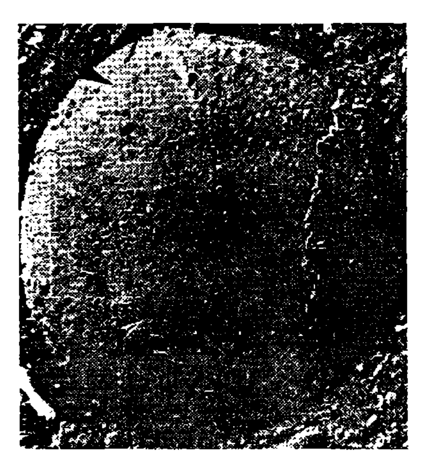
يبلغ سمك الغلاف النووي حوالي 40 نانوميتر بينما يبلغ سمك كل من غشائيه حوالي 6_10 نانوميتر ويفصل بينهما فراغ ضيق هو الفراغ حول النووي Perinuclear space أو الصهريج Cisterna يبلغ عرضه 15_25 نانوميتر .

تشابه الاغشيه النوويه في تركيبها الاغشيه البلازما والشبكه الاندوبلازميه الا أنهما يختلفان في نسبة أنواع الدهون مثل الدهون النخاعيه التي تكون منخفضه في الاغشيه النوويه والليسشين الذي يمثل نسبة مرتفعه في هذه الاغشيه بينما تتقارب نسب المركبات الاخرى تقريباً .

يتميز الغشاء النووي الداخلي بأنه اكثر تجانساً من الغشاء الخارجي وذلك لامتلاك سطحه الداخلي على حبيبات دقيقه متجانسة التوزيع تظهر على هيئة طبقه يتراوح سمكها بين 15_50 نانوميتر عند الفحص بالمجهر الالكتروني . ويعتقد بأنها مؤلفة من مواد غير بروتينية لعدم تأثرها بأنزيمات هضم البروتينات مثل الببسين والبروتينيز . تدعى هذه الطبقه بالصفيحه الداخليه أو الليفيه Fibrous lamina وترتبط بشده مع تجمعات من الكروماتين النووي .

الاغشية النويه المؤلفة للغلاف النووي غير مستمره وتتحد في مواقع عديده حول النواة تاركه فراغات تساعد على بقاء أتصال بين العصير النووي والسايتوبلازم تدعى هذه الفراغات بالثقوب النوويه Nuclear pores .

يختلف قطر الثقوب النوويه حتى في النواة الواحده ولكنه بشكل عام يتراوح بين40_100 نانوميتر .كما يختلف عدد الثقوب النوويه وطريقه توزيعها على سطح النواة أعتماداً على حالة الخلايا الايضية وعمرها .ففي خلايا البيوض يبلغ عدد الثقوب النوويه حوالي 60 ثقب /مايكروميتر مربع وحوالي 90_130 ثقب /مايكروميتر مربع في نوى الابتدائيات و10_15 ثقب /مايكروميتر مربع في خلايا الدم الحمراء غير الناضجة . بينما لم تشاهد الثقوب في نوى الخلايا المنوية وتشكل هذه الثقوب حوالي 5_30% من المساحه الكلية لسطح الغلاف النووي .



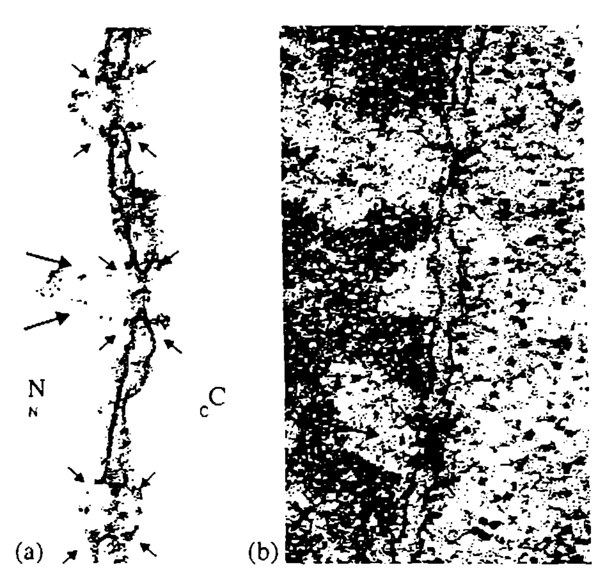
شكل 6_5 : صورة بالمجهر الالكتروني (X18500) لنواة خلية كلوية ويظهر فيها سطح الغلاف النووي على هيئة أجزاء بسبب تحضير النموذج بطريقة Freeze_ fracture .

تحتوي الثقوب النووية على مادة ربما تكون هلاميه غير معروفه التركيبت تملأ فراغاتها كلياً أو جزئياً وتدعى هذه الماده بالحاجب Diaphragm .تمتد مادة الحاجب قليلاً على السطح الخارجي والداخلي للاغشيه النوويه .كما أنها قد تنتشر في الفرغ بين الغشائين (شكل 6_6) .

ويظهر الفحص المجهري الالكتروني للثقوب بأنها أعقد مما يتصور البعض حيث أظهرت هذه الفحوصات بأن هناك تراكيب حلقيه والياف منتظمه بطريقه خاصة تربط بين هذه الحلقات مكونة تراكيباً هندسيه دقيقة . ويدعى الثقب النووي وملحقاته الدقيقه بمعقد الثقب Pore complex (شكل 6_7)

يتألف هذه المعقد من صفيحتين حلقيتين علوية وسفلية يبلغ قطر كل منهم حوالي 120نانوميتر وتبرزان خارج سطحي الغلاف النووي بحوالي 20نانوميتر ولكل منهما حلقه مركزية .أن الصفيحة الحلقية في الحقيقه هي مادة الحجاب مقواة

ثمانيةالياف مرتبة بطريقة شعاعية بحيث تعطي للثقوب النووية مظهراً ثماني الزوايا وتحتفظ في وسطها على حلقة مركزية يبلغ قطرها حوالي 50 نانوميتر . ترتبط الصفيحتان الحلقيتان مع بعضهما بألياف طوليه يبلغ عددها ثمانية الياف . يبدأ كل ليف من نهايه الليف الشعاعي ويمتد طولياً بأتجاه نهاية ليف شعاعي نظير في الصفيحة السفلية بحيث تؤلف الصفيحتان ما يشبه الاسطوانه الثمانية الاضلاع مجوفة .



شكل 6_6 : صورتين مكبرة جداً (b : X93000 a : X114000) لغلافين نووين توضحان الاغشيه النوويه والثقوب النوويه .



شكل 6_7 : صورة مكبره جداً بالمجهر الالكتروني (X40 000) للغلاف النووي والثقوب النووية لنواة الخلية أفرازية .

كما قد تظهر بعض الفحوصات المجهرية بزاويا مختلفة وجود حلقات أضافيه تقع في مستوى الاغشيه النووية .

أن التركيب العام لأغشية النواة مشابه لتلك المحيطه بالسايتوبلازم .لذلك فأن لهذه الاغشيه القدرة على التحكم بنفاذية المواد .كما تشير حركه الايونات العديدة ووجود شحنات كهربائيه على الاغشيه الى وجود مواقع نقل فعالة لآيونات مختلفة . للاغشيه القدره أيضاً على أدخال جزيئات أخرى مثل السكريات البسيطه والحوامض الامينيه والنوويه وهو ما يبعث على الاعتقاد أما بوجود بروتينات ناقله مطموره في الطبقات الدهنيه للاغشيه أو لربما أن ذلك له علاقة بالثقوب النووية . أضافة لما سبق فأن لاغشيه الغلاف النووي نشاطات أنزيمية .فقد تم تحديد مواقع العديد من الانزيمات على الاغشيه مثل الانزيمات GDPase و IDPase و UD-Pase و TTPase وجميعها أنزيمات لها علاقة بمركبات الطاقة .

تحتوي النواة في داخلها على سائل نووي Karyoplasm أو Nuclear sap يمثل محلول غروي نصف شفاف يحتوي بداخله على المادة الكروماتينية وبعض الحبيبات الصغيره والبروتينات ويعمل كوسط لانتشار النواتج الايضية والجزيئات العضوية الكبيرة .

النويات Nucleoli :

توجد بداخل النواة نويات Nuclcoli تمثل مناطق كثيفة كروية أو مستديره أو بيضوية وقد تكون خيطيه أو غير منتظمه في الخلايا الهرمة . ترتبط النويات بكروموسومات معينه .فكل نواة تحتوي عادة على نويه واحده لكل مجموعة أحادية من الكروموسومات ومع ذلك فأن بعض الخلايا لا تحتوي على نويات .تكون النويات غنية بالحامض النووي الريبوزي RNA والبروتينات ولكنها خالية من الـ DNA مع أن الكروماتين يخترق مواقع مختلفة من النويات .كما لا تحاط النويات بأغشيه .تبين صور المجهر الالكتروني أن النويات تحتوي على أعداد كبيره من الجزيئات الكروية يبلغ قطرها 250 أنكستروم تقريباً ترتبط مع بعضها بخيط دقيق

ـؤلفة خيطاً حبيبياً قد يلتف لتكوين تلافيف لولبية أو طيات متداخلة تشابه كرة حيوط مفككه . ويظهر التحليل الهستوكيميائي بأن هذه الخيوط هي في الواقع ـياف دقيقه مؤلفة في الريبونيوكليوبروتين Ribonucleoproteins تتماسك مع ـعضها لتأليف الخيط النويي Nucleolonema يساعدها في ذلك بروتينات غير ـتبلوره .كما يظهر التحليل أن أغلب الحامض النووي الريبوزي RNA الموجود في ـنوية يرتبط مع الاجسام الحبيبية في شبكه الخيوط .

أن للنويات أهمية كبيرة حيث يظهر بأن الخلايا (او الاجنة) التي تفتقر للنويات ـلا تعيش طويلاً والخلايا التي تنقسم بالانقسام الميتوزي لا يكتمل أنقسامها بدون ـنوية .أن هناك غموضاً حول الدور الوظيفي للنويات الا أن هناك عدداً من الادلة التي ـتربط هذه الاجسام مع بناء البروتينات والاحماض النووية الريبوزيه الريبوسوميه والمرساله .ويعتقد بأنها تعمل على بناء الريبوسومات الخلويه وأطلاقها عبر العصير النووي الى السايتوبلازم . كما يعتقد بأن الاجسام الحبيبية داخل النويات هي ـريبوسومات نشيطة تعمل على بناء البروتينات وأستخدام جزيئات الحامض النووي المرسال لهذا الغرض . ولذلك فأن النويات موقع أرتباط بين النواة والسايتوبلازم حيث ثبت بأن هناك موادا منتجه في النويات تذهب بأتجاه السايتوبلازم عبر النواة وعلى هيئه كريات دقيقه يبلغ قطرها حوالي 20 نانوميتر .لقد شوهدت هذه الكريات على هيئة كتل من الحبيبات ممتده من النوية والغلاف النووي وخارجه وتبين من الفحوصات بأنها غنية بالبروتينات النوويه RNP وتتحد مع الشبكه الاندوبلازميه الخشنه والمايتوكوندريا ويعتقد بأن هذه المنتجات لها علاقة في تكوين الصفائح الحلقيه التي يمكن مشاهدتها في بعض الخلايا .

الكروماتين Chromatin :

أضافة للمكونات السابقة فأن نوى الخلايا تمتلأ بعصير نووي يحتوي على الكروماتين النووي الذي يظهر على هيئة شبكه دقيقةغير منتظمه تتوزع في النوى . الا أن التحليل الكيميائي والمجهري الدقيق أوضح بأن الكروماتين النووي اكثر تعقيداً مما يعتقد (شكل 6_8) .

يظهر الكروماتين في نوى خلايا الطور البيني على هيئة بقع او كتل مختلفة المساحة يتوزع بطرق مختلفة داخل النواة . بينت الفحوصات الهستوكيميائيه والمجهريةبان كتل الكروماتين تختلف في كثافتها وان هناك كتلاً ذات كثافة عاليةتصطبغ بشده وكتلاً اقل كثافة ذات قدرة اصطباغية خفيفة مع صبغة فولجين . تختلف طريقة توزيع كتل الكروماتين في النواة من نوع خلية الى اخرى ولكنه في الاغلب توزيع متجانس يظهر انتظاماً دقيقا . الا ان بعض نوى خلايا الابتدائيات يظهر بأنها تحتوي على تجمعين للكروماتين يتوزعان على جانبي النواة ويرتبطان مع بعضهما بواسطة حزمة وسطية ولا تلبث

شكل 6_8 :نواة خلية بلازما ويظهر واضحاً فيها توزيع أنواع الكروماتين النووي . اذ يظهر الكروماتين الحقيقي بلون فاتح بينما يكون الكروماتين المتباين غامقاً .

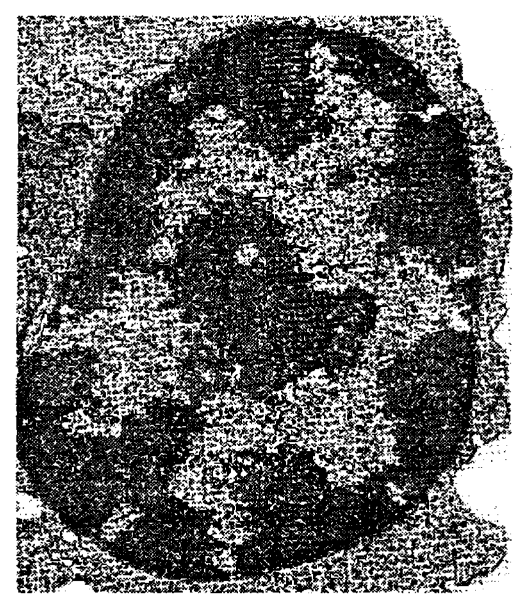
هذه التجمعات ان تختفي بعد فترة لتحل محلها شبكة كروماتينية حبيبية تختلف في كثافتها . في نوى الخلايا اللمفاوية يظهر الكروماتين متوزعاً على هيئة كتل محيطية واخرى مركزية تكون هذه غالباً ذات كثافة عالية وشديدة الاصطباغ مع وجود نسبة بسيطة مركزية من الكروماتين الاقل كثافة . وقد اطلق على الكروماتين الكثيف بالكروماتين المتباين Hetro chromatin وعلى الكروماتين الاقل كثافة بالكروماتين الحقيقي Euchromatin (شكل 6_9) .

تظهر فحوصات المجهر الالكتروني التي اجريت على نماذج محضرة بالحفر

والتجميد او بتفجير النوى فوق سطوح خاصة بان كتل الكروماتين مؤلفة من شبكة معقدة متصلة من الالياف الانبوبية الدقيقة ذات اقطار تتراوح ما بين 4_10 نانوميتر يحتوي بعضها على تفرعات دقيقة جانبية وقد تحتوي بعض النماذج وخصوصاً تلك التي تعود للاوليات على لوالب خيطية دقيقة تختلف كثافتها من منطقة الى اخرى وقد تظهر هذه اللوالب على هيئة تجمعات كثيفة في مواقع معينة .

في نوى الهامستر الصيني تظهر شبكة الكروماتين متوزعة الى شبكات ثانوية مرتبطة مع بعضها .كما ترتبط كل شبكة ثانوية بالغلاف النووي وخصوصاً في مواقع الثقوب النووية بحيث تتدلى من خلال هذا الموقع داخل عصير النواة .كما يظهر الفحص المجهري وجود مواقع اخرى لارتباط هذه الشبكات يقع داخل النواة يتمثل في وجود عقدة داخلية مؤلفة من اجسام كروية متعددة .

تظهر الياف شبكة الكروماتين تحت الفحص المجهري الالكتروني بقوة تكبير عاليه محببه تحتوي على انتفاخات او اجسام حبيبية يقدر قطرها بحوالي 25 نانوميتر تنفصل هذه عن بعضها بمسافة .تختلف المسافة بين كل حبيبة او انتفاخ اعتماداً على موقعها في الكروماتين .



شكل 6_9 : نواة مكبرة بالمجهر الالكتروني (X26500) تظهر مكوناتها واضحة حيث تتمركز في وسطها النوية محاطه بالكروماتين الحقيقي الفاتح اللون والكروماتين المتباين الغامق اللون . كما يظهر غشائي الغلاف النووي واضحين .

ففي الكروماتين الشدي الاصطباغ (الكروماتين المتباين) تصطف هذه الحبيبات بشكل متجاور لا يفصله عن بعضها سوى مسافة بسيطة جداً تقدر بـ 10 نانوميتر او اقل تبتعد عن بعضها من الكروماتين الاقل كثافة واصطباغاً (الكروماتين الحقيقي) لتصل المسافة بينهما حوالي 75 نانوميتر .

ويظهر بان كثافة الكروماتين وشدة اصطباغه يعود الى نوع تنظيم هذه الحبيبات على شبكة الالياف الكروماتينيه حيث تزداد شدة الاصطباغ بزيادة اعداد الحبيبات المتراصة في الشبكة وتقل بابتعادها عن بعضها وانخفاض عددها .

بينت الفحوصات الهستوكيميائية والبايوكيميائية التي اجريت على الشبكة الكروماتينية بان النماذج المفحوصه بالمجهر الالكتروني والمعاملة بانواع مختلفة من انزيمات تحليل البروتينات مثل التربسين والبروتينيز تبين اختفاء معظم الاجسام الحبيبية التي سبق مشاهدتها في النماذج الاعتيادية غير المعاملة . ويبدو بان هذه الحبيبات مؤلفة من بروتينات اختفت من الشبكة بفعل تحليلها بالانزيمات الهاضمة . لقد وضح الفحص بالمجهر الالكتروني للنماذج المعاملة بالانزيمات الهاضمة بان ما تبقى من الشبكةالكروماتينية بعد المعاملة هو شبكة من الالياف الدقيقة التي يتراوح قطر الليف فيها حوالي 4_6 نانوميتر مع وجود مواقع متوسعة الالياف او الياف بطيات لولبية تقريباً يعتقد بانها تمثل مواقع الاجسام الحبيبية التي اختفت بسبب المعاملة بالانزيمات .

كما بينت فحوصات المجهر الالكتروني التي اجريت لنماذج نوى معاملة بانزيم DNase أختفاء معظم شبكة الكروماتين وبقاء شبكة مختزلة مبعثره عشوائيا وهو ما يبعث على الاعتقاد بان الالياف المؤلفة للشبكة الكروماتينية تتألف محاورها المركزية في الغالب من DNA . بينما اختفت من هذه الشبكة التفرعات الجانبية في النماذج المعاملة بانزيم RNase مما يبعث بالاعتقاد بان التفرعات الجانبية مؤلفة من RNA مرتبط مع المحور المركزي لألياف الشبكة والمؤلفة من الـ DNA . لقد اكدت فحوصات نوى الخلايا المرباة في وسط غذائي غنيٍ بالثايمدين او اليوريدين الموسمة بنظير الهيدروجين الثالث (ثايميدين ـ H^3 ويوريدين ـ H^3) بأن الحبيبات

الفضية التي تمثل الثايميدين ـ H^3 تتوزع بصورة عشوائية في العصير النووي الا انها تتركز في مواقع الكروماتين الحقيقي . بينما تتركز الحبيبات الفضية التي تمثل اليوريدين ـ H^3 على الكروماتين الحقيقي وخصوصاً على التفرعات الجانبية لشبكة الكروماتين فيه .

ان هذه النتائج تبين بان المحاور المركزية للشبكة الكروماتينية ربما تكون مؤلفة من الـــ DNA بينما تمثل التفرعات الجانبية للشبكة وخصوصاً في مواقع الكروماتين الحقيقي جزيئات RNA . ان ذلك يوضح بان مواقع الكروماتين الحقيقي هي المواقع النشيطة لاستنساخ جزيئات الحامض النووي RNA بينما تظهر مواقع الكروماتين المتباين غير نشيطة بسبب وجود بقع فضية قليلة جداً . ان هذه النتائج تعتبر مؤشراً على زيادة النشاط الايضي في الخلايا عند زيادة كتل الكروماتين الحقيقي فيها .كما تبين نتائج التحليل الكيميائي للمكونات البروتينية النووية الى وجود مجموعتين من البروتينات الرئيسية في النواة وهي البروتينات الهستونية والبروتينات اللاهستونية . وتتميز المجموعة الهستونية بكونها بروتينات قاعدية ذات شحنة موجبة في الوسط المتعادل (PH: 7.0) .

ويعزى ذلك الى وجود نسبة عالية 20_ 30% من احماض الارجنين واللايسين الموجبة الشحنة في تركيبها (وجود مجموعة امين موجبة NH_3^+ ـ) .

فيما تكون المجموعة اللاهستونية حامضية ذات شحنة سالبة في الوسط المتعادل وتوجد المجموعتان بنسبة متكافئة بالنسبة للحامض النووي DNA (شكل 10_6) . لقد تم عزل خمسة انواع من البروتينات الهستونية سميت H_1 و H_2a و H_2b و H_3 وH_4 وهي ثابته في جميع الاحياء حقيقية النواة باستثناء الخلايا المنوية .

ان للكروماتين المتباين القدرة على التحول الى الكروماتين الحقيقي وبالعكس . ففي الخلايا اللمفاوية الطبيعية غير النشيطة يمثل الكروماتين المتباين نسبة عالية تصل الى اكثر من 90% من الكروماتين الموجود في نواها بينما تنخفض هذه النسبة الى اقل من 60% في الخلايا اللمفاوية النشيطة .

```
+NH3          H     H     H     H
    \         |     |     |     |
H — C — C — C — C — N — C = NH
    |                   |
    C                  +NH3
  //  \
 O     O
```

حامض الأرجنين

```
+NH3          H     H     H     H
    \         |     |     |     |
H — C — C — C — C — C — +NH3
    |         |     |     |     |
    C         H     H     H     H
  //  \
 O     O
```

حامض الليسين

شكل 6_ 10 : الأيونات الموجبة في حامضي الأرجنين والليسين الداخلة في تركيب البروتينات الهستونية والتي ترجع إليها الطبيعة القاعدية والشحنة الموجبة .

ويعزى ذلك الى تحول الكروماتين المتباين الى كروماتين حقيقي لزيادة نشاط هذه الخلايا .

يظهر الكروماتين في نوى الخلايا اللمفاوية غير النشيطة موزعاً على هيأة تجمعات محيطية كبيرة وأخرى مركزية صغيره . ويبدو من الاصطباغ الشديد لهذه التجمعات بصبغة فولجين بأن أغلب هذا الكروماتين هو كروماتين متباين شديد الكثافة والاصطباغ .

يتم تنشيط هذه الخلايا عن طريق تربيتها في وسط غذائي مقوى بمادة PHAv ـ Phytohaemagglutinin المنشطة حيث تصبح الخلايا عندها نشيطة وكبيرة الحجم وتحدث تغيرات مهمه في كروماتين نواها . اذ يظهر في نوى الخلايا اللمفاوية النامية لمدة أربعه ساعات في الوسط المقوى بمادة PHAv مناطق كروماتين حقيقي قليل الكثافة والاصطباغ بين كتل الكروماتين المتباين وبعد 24 ساعة تزداد نسبة الكروماتين الحقيقي ويظهر على هيأة كتل تتداخل مع كتل الكروماتين المتباين

وتنخفض نسبة الكروماتين المتباين الى النصف تقريباً 55 _60% مع زيادة نسبه الكروماتين الحقيقي .وتزداد نسبة الكروماتين الحقيقي في النوى بأزدياد فترة بقاء الخلايا في المزارع المقواة بمادة PHAv حتى يصبح الكروماتين المتباين محيطي مختزل مع جزء مركزي مفكك يتخلله الكروماتين الحقيقي .

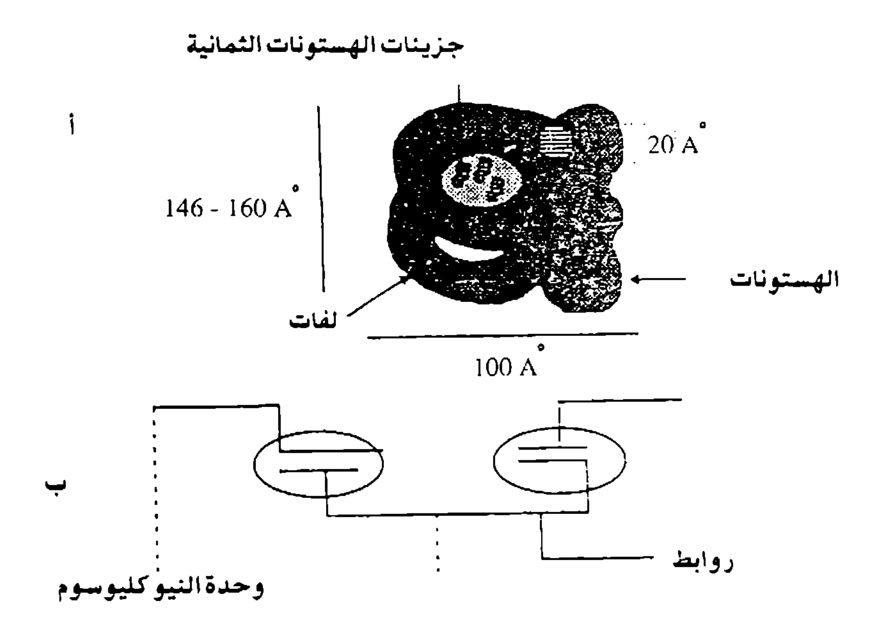
التركيب البنائي للكروماتين :

أن الصوره البنائية التي يمكن أستخلاصها من المعلومات السابقة هي أن الكروماتين يتألف من شبكة من الالياف ذات أجسام حبيبية تختلف في توزيعها على نوعي الكروماتين . وأستناداً الى المعلومات الغزيره التي وفرتها طرق التحليل البايوكيميائي والهستوكيميائي والمجهر الالكتروني أضافة لطرق أخرى فقد تم وضع تصور لشبكه الكروماتين .يعتمد هذا التصور الى ان شبكه الكروماتين مؤلفة من شريط مركزي (يظهر على هيئة الياف في فحوصات المجهر الالكتروني)من الحامض النووي DNA يتخلله معقدات تركيبيه تظهر في فحوصات المجهر الالكتروني كأجسام حبيبيه سميت بالنيوكليوسومات Nucleosomes وهي تمثل الوحدات الاساسية للكروماتين .

تتركب النيوكليوسومات من سلسلة من الاجسام البيضوية التي يبلغ قطر كل منها حوالي 110 أنكستروم وبأرتفاع 60 أنكستروم .تتألف الجسيمة البيضاوية من لب مؤلف من ثمانية جزيئات من البروتينات الهستونية H_2a ، H_2b ، H_3 ، H_4 تحاط بلفتين من شريط الحامض النووي DNA بطول 146 _ 160 زوج قاعدي ويعمل جزئ تاسع من البروتينات الهستونية وهو البروتين H1على تثبيت اللفتين من الخارج (شكل6_11) .

ويعتقد بأن ترتيب الهستونات الداخليه والخارجيه في تركيب النيوكليوسوم له دور أساسي في حماية جزيئة الحامض النووي من التحطم بواسطه الأنزيمات والتعبير عن المورثات .ترتبط تلك الجسيمات مع بعضها بواسطة أشرطة الحامض النووي DNA ذات أطوال مختلفة تتراوح بين 8_ 114 زوج قاعدي .

وتتألف الوحدة الكامله للنيوكليوسوم من تسع جزيئات هستونية و200 زوج قاعدي (تمثل لفات النيوكليوسوم والقطعة الرابطة) . ويبلغ قطر الشريط الذي يمثل اللفة حوالي 20 أنكستروم .أن هذا التصور للوحدة البنائية للنيوكليوسوم قد جاء من التحليل الكهربائي بأستخدام طرق الترحيل الكهربائي Electrophoresis و التحليل الكيميائي والهستوكيميائي وطرق تحليل العينات لفحص المجهر الالكتروني وغيرها .وقد أدى الاستخدام المثالي لتلك التقنيات وغيرها الى ثوره حقيقية ساهمت في أبراز الكثير من المعلومات التي ساعدت في توضيح العديد في الجوانب الوراثيه للكروماتين .



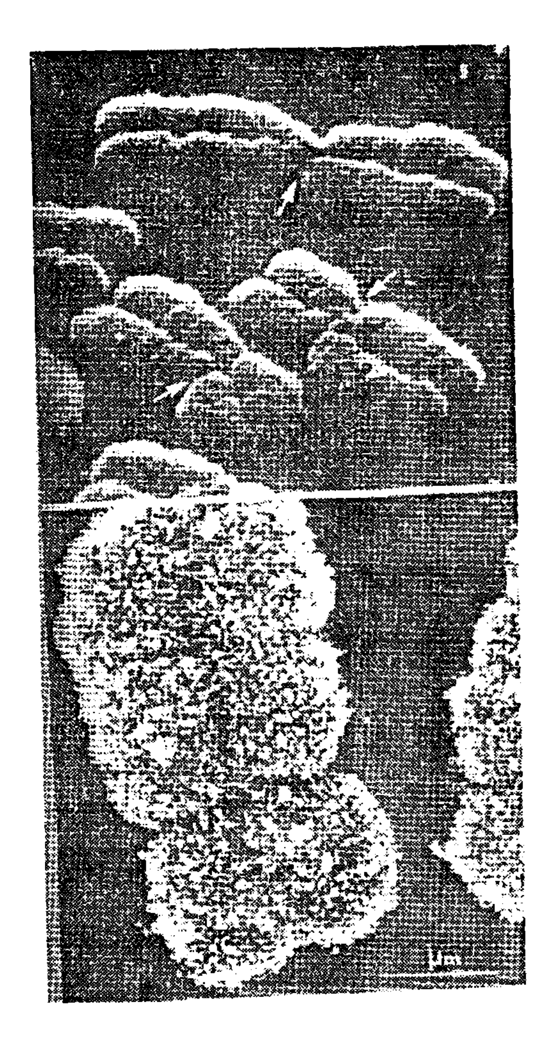
شكل 6_11 : أ ـ تركيب النيوكليوسوم ويلاحظ التفاف جزيئة الحامض النووي حول لب مكون من ثمانية جزيئات من الهستونات وجزيئة تاسعة خارجية لتثبيت لفات الحامض النووي .

ب ـ أسلوب ارتباط وحدات النيوكليوسوم المكونة للكروماتين .

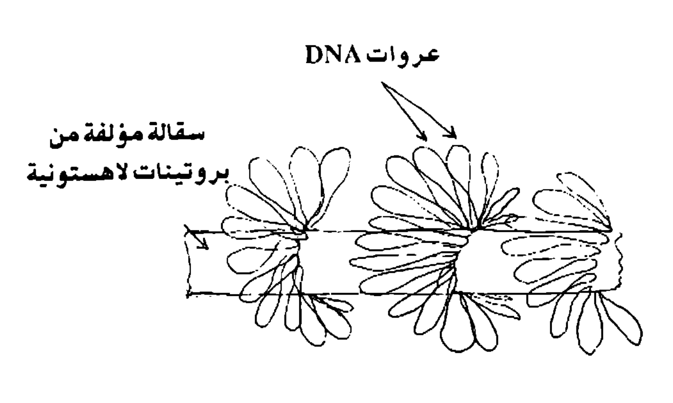
الكروموسومات Chromosomes :

تختفي الشبكة الكروماتينيه التي سبق مشاهدتها في نوى الخلايا في الطور البيني عندما تدخل هذه الخلايا المراحل الانقساميه ويظهر بدلاً عنها أجسام رفيعه طويله حبيبيه مستقلة تلتف على بعضها . ويختلف عددها تبعاً لنوع الكائن المأخوذه منه الخلايا . تدعى هذه الاجسام الطويلة بالصبغيات أو الكروموسومات Chromosomes . ويبدو بأن الياف شبكه الكروماتين تتوزع على الكروموسومات بحيث يحتفظ كل كروموسوم بجزء من الكروماتين . وبالنظر لاختلاف طول الكروموسومات فأن كمية الكروماتين الموجود فيها مختلف أيضاً . يزداد وضوح الكروموسومات بتغلظها عند دخولها الى أطوار أو مراحل الانقسام الخلوي . ويظهر من فحوصات المجهر الالكتروني والفحوصات الهستوكيميائيه للكروموسومات بأنها مؤلفة من قلب بروتيني لاهستوني يمثل سقالة Nonhistons Scaffold يترتب حولها الكروماتين على هيئة تجمعات من الحلقات الشعاعية التي تتوزع على طول السقالة مما يعطي الكروموسومات عند فحصها بالمجهر اللكتروني بقوة عالية مظهراً يشابه الياف القطن الدقيقة (شكل 6_12و13) .

تختلف كثافة هذه التجمعات من موقع على الكروموسوم الى آخر . ففي المواقع التي تمثل الكروماتين المتباين تكون هذه التجمعات متقاربة أضافة لوجود كثافة عاليه من النيوكليوسومات فيها مما يعطيها كثافه عاليه في حين تقل كثافة هذه التجمعات في مواقع الكروماتين الحقيقي . ويمكن مشاهدة توزيع نوعي الكروماتين في الكروموسومات بعد صبغها بطريقة تحزم Gأو C(Gor C _ Bandding) وفحصها بالمجهر الضوئي حيث تظهر مواقع الكروماتين المتباين على هيئة حزم غامقة الاصطباغ بينما تظهر مواقع الكروماتين الحقيقي على هيئة حزم فاتحة اللون (شكل 6_14) .



شكل 6_12 :صورتان مكبرة جداً بالجهر الالكتروني لعدد من الكروموسومات في الطور البيني المتأخر . ويلاحظ المظهر القطني لألياف الكروموسومات .

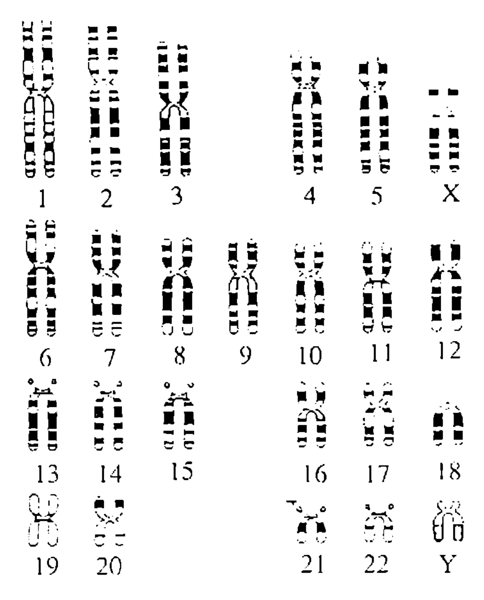


شكل 6_ 13 : تنظيم الكروماتين على هيأة تجمعات من العروات الاشعاعيه المؤلفة من DNA تتوزع على سقالة الكروموسوم المؤلفة من بروتينات لا هستونية .

عند بداية الطور التمهيدي Prophase تظهر الكروموسومات على هيئة مزدوجة مؤلفة من زوج من الاجسام المستديرة الطويلة (كروماتيدات Chromatids) ترتبط مع بعضها بواسطه قطعة مركزية Centromere .

يختلف موقع قطعة الاتصال بين الكروماتيدات في الكروموسومات .فبعضها يكون وسطي الموقع Metacentric بحيث تكون أذرع الكروماتيدات متساوية الطول . وقد تكون منطقة الاتصال على مسافة قصيره من وسط الكروموسوم Submetacentric

تحصل للكروموسومات العديد من المتغيرات الفيزيائية أثناء عملية الانقسام الخلوي وستفصل هذه المتغيرات في الموضوع الخاص بذلك .



شكل 6_ 14 : توزيع الكروماتين على الكروموسومات البشرية بأستخدام طريقة تحزم ـ G . تظهر مناطق الكروماتين المتباين كحزم غامقة اللون بينما تظهر مناطق الكروماتين الحقيقي كحزم فاتحة اللون . بحيث تكون الاذرع غير متساوية في الطول .كما قديكون السنتروميتر طرفي أو قمي Ac-rocentric تتدلى منه الكروماتيدات .

الكروموسومات والجينات Genomes :

تختلف كميه الحامض النووي DNA(مجين Genome)في النوى اعتماداً على عدد الكروموسومات . وهذا يعود أيضاً على نوع الكائن الذي تعود اليه الخلايا .فمجين الانسان يبلغ حوالي $3x10^6$ زوج قاعدي يتوزع على 23 زوج من الكروموسومات بينما يبلغ مجين الدورسوفيلا $12x10^7$ زوج قاعدي تتوزع على أربعة أزواج من الكروموسومات .

الكروموسومات كما تم شرحها عبارة عن حامض نووي DNA وبروتينات

مختلفة تتحد مع بعضها بشكل منظم . ويلتوي DNA النوى بشكل دقيق وكثيف في الكروموسومات وهو ما يدعى بالحاله المكثفة Condensed state . يمثل الجين في الاحياء حقيقية النواة مجموعة زوجيه كامله من الكروموسومات Diploid . أن حجم مجين الاحياء يعتمد على موقعها التطوري . فمجين الاحياء الاكثر تطوراً اكبر من مجين الاحياء الاقل تطوراً ويستثنى من هذه القاعدة بعض البرمائيات والاسماك حيث أن لها مجينات اكبر مما لخلايا الانسان (جدول 6_1) .

جدول 6_1 :بعض مجينات الاحياء .

حجم الجين(زوج قاعدي)	الكائن
3 X 10^{9}	الانسان
12 X 10^{7}	ذبابة الفاكهه ـ الدروسوفيلا
4 X 10^{6}	بكتريا القولون
2 X 10^{5}	العاثي T4
48 X 10^{3}	العاثي لامبدا

التنظيم الجزيئي لكروماتين الكروموسومات :

يتوزع الكروماتين على الكروموسومات بطريقة خاصه بكل زوج كروموسومي بحيث نستطيع من خلال تصبيغ الكروموسومات بتحزم ـGأو C أن نميز أزواج الكروموسومات أعتماداً على طريقة توالي حزم الكروماتين الحقيقي والمتباين .

أن التجارب السابقة التي تم الحديث عنها حول أهمية نوعي الكروماتين بأستخدام اليوريدين ـH^3 وضحت تركز معظم هذه المادة على مواقع الكروماتين الحقيقي وهو مايدل على وجود الحامض النووي RNA في هذه المواقع أو بقربها .

لقد أظهر التحليل الوراثي بأن معظم المورثات التركيبيه النشيطة القادره على التعبير عن نفسها تقع في مناطق الكروماتين الحقيقي بينما تقع التتابعات غير المشفره أو غير النشيطة وراثياً في مناطق الكروماتين المتباين . وقد ساهمت طرق الطرد المركزي الفائق Ultracentrifuge في فصل هذه التتابعات أعتماداً على أوزانها

الجزيئية . كما أن طرقاً مثل تهجين الحامض النووي DNA ـDNA وDNA ـ RNA (التي تعتمد على أستخدام النظائر المشعة في توسيم أحد الأشرطة المستخدمة ومن ثم أستخدامه في عمليه أعادة أرتباط Reassosiatio بإستخدام درجة الحرارة عاليه وتبريد مفاجئ) أو طرق تحليل الكيميائي البايولوجي(التي تعتمد على تحديد نسبة القواعد النتروجينيه في أزواج النيوكليوتيدات في تتابعات الحامض النووي DNA) قد قدمت معلومات ممتازه عن وجود أشكال مختلفة في التتابعات في مناطق الكروماتين الحقيقي والمتباين .

لقد وجد بأن هناك العديد من التتابعات المتكرره Repetitive DNA وهي تمثل حوالي 20 ـ 50% من الجين في الاحياء حقيقية النوى وتقع معظمها في مواقع الكروماتين المتباين وأضافة لذلك فأن هناك تتابعات متوسطه وعاليه التكرار في هذه المناطق .أما التتابعات المفرده التي تمثل المورثات التركيبيه النشيطه فأنها تمثل نسبه عاليه من التتابعات وتبلغ حوالي 40ـ 80% . كما أن هناك أنواع أخرى من التتابعات التي تنتشر في الكروماتين مثل التتابعات الضيقه أو الترددات التابعيه Satellite DNA وأنواع من التتابعات التي لها القدرة على الانتقال أو الحركه Transposable elements .

وظائف النواة :

تمثل النواة مركز تنظيم النشاط الحيوي للخلايا بسبب أحتواءها على المادة الوراثية . ولأهمية هذا الدور فأن هناك أتصالاً وثيقاً بين النواة والسايتوبلازم وقد تم أيضاح بعض أوجه هذا الاتصال عبر التبادل النووي ـ السايتوبلازمي من خلال النشاط الايضي للغلاف النووي والثقوب النووية والارتباط مع الشبكه الاندوبلازمية وغيره . يتم من خلال ذلك امرار الاوامر الازمة لبناء الانزيمات والبروتينات وتوجيه أيض الخليه بأجمعه . تحتوي النواة لأجل القيام بمهامها بأنواع مختلفة من الانزيمات النوويه وقد أوضحت الابحاث التي أجريت على نوى الخلايا بأستخدام النظائر المشعه بأن البلازما النوويه غنية بأنواع من هذه الانزيمات مثل

أنزيمات تضاعف الحامض النووي DNA Polymerases ـ DNA وأنزيمات بناء الاحماض النوويه الريبوزية RNA Polymerases ـ RNA وأنزيمات محطمه RNase,DNase وأنزيمات طاقه ATPase وأنزيمات لاحمه Ligases وأخرى مثل Topoisomerasws (Gyrases)وHelicases و.Singls strand bindingP وبروتينات متنوعة أخرى وأشكال من النيوكيلوتيدات .

ويظهر من ذلك بأن الوظائف الرئيسيه التي يمكن الحديث عنها بغياب المعلومات عن دور النواة في توجيه الايض والسيطره عليه هي بناء الاحماض النووية DNA وRNA .

تضاعف الحامض النووي DNA replication DNA :

الحامض النووي الريبوزي منقوص الاكسجين هو عبارة عن جزيئات مكونه من وحدات متكررة (polymers)(البوليمرجزيئة تحتوي على وحدات متكررة) تدعى بالنيوكليوتيدات .تتألف هذه من سكر خماسي الكربون ومجموعة فوسفور واربعة قواعد نيتروجينيه .اثنان من هذه القواعد هما من البايرميدينات (Pyrimidins) والتي تحتوي على حلقة بنزين واحدة وهما الثايمين (Thymine) والسايتوسين(Cytosin) . اما القاعدتان النتروجيتان الاخريان فهما من البيورينات (Purines) التي تحتوي على حلقتي بنزين وهما الادنين (Adenin) والجوانين (Guanine) .

كما ان هناك اشكال محورة من هذه القواعد وبكمية قليلة في بعض الاحياء .عندما ترتبط القاعدة النيتروجينية مع السكر الريبوزي منقوص الاكسجين (deoxyribose) فانها تكون مركباً يدعى بالنيوكليوسايد (nucleoside) وعند ارتباط سكر النيوكليوسايد مع مجموعة الفوسفور يتكون ما يدعى بالنيوكليوتايد (nucleotide) (شكل 6_15) .

ونظراً لوجود اربعة قواعد نيتروجينية فان الحامض النووي يحتوي على اربعة انواع من النيوكليوتيدات وهي الـ :

- (deoxyadenylic acid) الذي ينتج من ارتباط الادنين
- (deoxyguanylic acid) الذي ينتج من ارتباط الجوانين .
- (thymidylic acid) الذي ينتج من ارتباط الثايمين .
- (deoxy cytidylic acid) الذي ينتج من ارتباط السايتوسين

ان الاختلاف الوحيد بين هذه النيوكليوتيدات هو في ارتباط القاعدة النيتروجينة مع السكر كما يطلق على هذه النيوكليوتيدات التسميات التالية

("d _ AMP) deoxyadenosine 5⁻– Monophasphate)

("d_ GMP)deoxygnansine 5⁻– Monophasphate)

("d _ TMP) deoxythymine 5⁻– Monophasphate)

("d _ CMP) deoxycytosine 5⁻– Monophasphate)

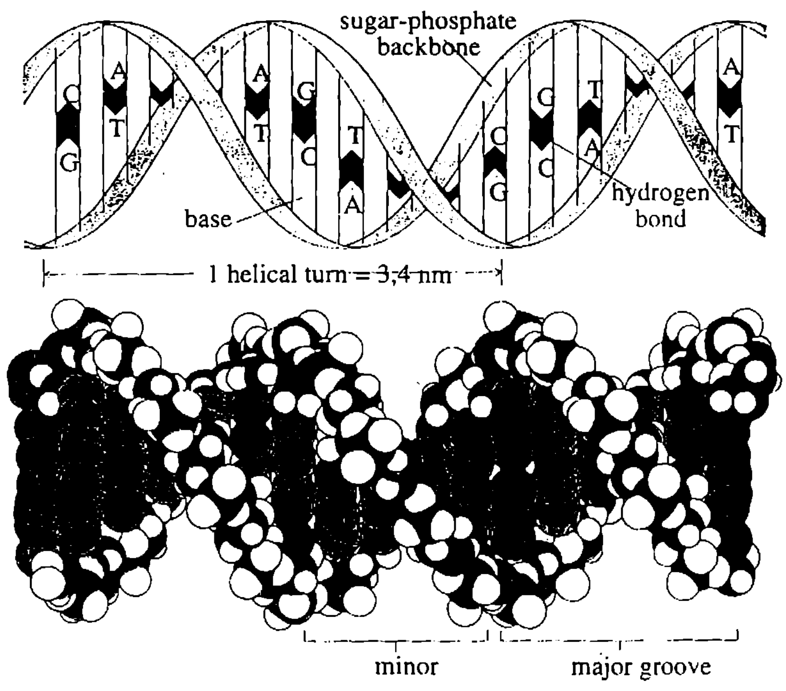
ترتبط هذه النيوكليوتيدات في الحامض النووي لتكوين شريط متعدد النيوكليوتيدات حيث ان المجموعة الفوسفورية المرتبطة مع ذرة الكربون الخامسة لسكر النيوكليوتيد ترتبط مع ذرة الكربون الثالثه للسكر في النيوكليوتيد الاخر .تدعى الروابط بين الفسفور والسكر بروابط الفسفور ثنائي الاستر (phosphodiester bands)(شكل 6_16) . ان اتجاهات ارتباط ذرة الكربون الخامسة للسكر في النيوكليوتيد مع ذرة الكربون الثالثه للنيوكليوتيد آخر تستمر على طول الشريط -5 - 3⁻ - 5⁻ مما يولد قطبية (polarity) معينة تعتبر مهمة جداً في التضاعف والوظيفة الوراثية . ويلاحظ من اتجاهات الارتباط بان المجموعة النهائية لكل شريط متعدد النيوكليوتيد هي مجموعة 5- فوسفوريل(phosphoryl_ (5_p)) حيث ترتبط ذرة الكربون الخامسة لنيوكليوتيد مع مجموعة الفوسفور لتكوين هذه النهاية فيما تقع مجوعة 3- هيدروكسيل((3_hydroxyl (3_OH) في النهاية الثالثة . تترتب نهايات شريطي الحامض النووي باتجاهات متعاكسة حيث يبدأ الشريط الاول بالنهاية الخامسة لينتهي بالنهاية الثالثة بينما يبدأ الشريط الثاني بالنهاية المجاورة لبداية لشريط الاول بالنهاية الثالثة لينتهي بالنهاية الخامسة وهو ما

يطلق عليه التوازي المتضاد (Antiparallel) (شكل 6_17) .

وهذا يدل على أن القواعد النيتروجينية في الشريط الاول باتجاه معاكس لاتجاه القواعد في الشريط الثاني .

شكل 6_15 : القواعد النتروجينية الاربعة التي تنتشر في سلاسل أو أشرطة الـ DNA .

شكل 6_16 : تخطيط يوضح كيف ترتبط النيوكليوتيدات مع بعضها بواسطه أواصر الفوسفور ثنائي الاستر في شريط DNA .



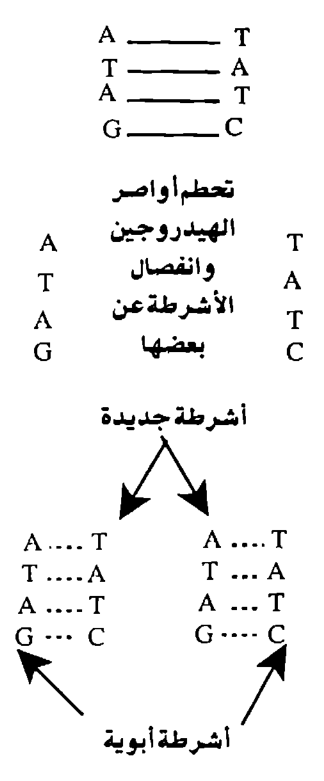
شكل 6_17 :مزدوج الحامض النووي DNA يوضح أرتباط أزواج القواعد النتروجينيه في النيوكليوتيدات والتوازي المتضاد لشريطي الحامض النووي .

تم التعرف على التركيب الكيميائي للحامض النووي منذ نهاية العقد الثالث ومطلع العقد الخامس من هذا القرن حيث ساعدت تقنيات الكيمياء الحيوية في الكشف عن تركيبها الكيميائي فقد اتاحت تقنية الترحيل الورقي (Chromoto graphy) التي استخدمت عام 1940 والتي استخدمت في تحليل بوليميرات البروتينات فرصة لتحليل الحامض النووي . اثبت من خلالها العالم تشار جاف عام 1949 حقائق اخرى غير معروفة عن الحامض النووي .اهمها ان النيوكليوتيدات لا تختلف فقط في القواعد النيتروجينية بل ان نسبة هذه القواعد مختلفة ايضاً .وان هذه النسبة تختلف من حامض نووي لنوع معين في الاحياء الى اخر .كما انه في عام 1950 استخدم المجهر الالكتروني لدراسة الحامض النووي ووجد بانه جزيئة غير اعتيادية مؤلفة في وحدات تمتد الى الالاف من الانكسترومات ويبلغ سمكها 20

أنكستروم .اتاحت هذه الدراسة الفرصة امام الباحثين في الخوض عميقاً في كنه الحامض النووي .واظهرت صور اشعة اكس أخذت لبلورة حامض نووي بين عام 1950 ـ 1952من قبل فرانكلين وجوسلنك روزيلند بان الحامض النووي عبارة عن حلزون مزدوج او ثلاثي الاشرطة . وفي عام 1952 اكتشف علماء الكيمياء العضوية في جامعة كامبرج بان النيوكليوتيدات المؤلفة للحامض النووي ترتبط مع بعضها بواسطة روابط فوسفات ثنائية الاستر مشكلة العمود الفقري . توجت هذه المعلومات جميعاً بنظرية نموذج الحلزون المزدوج التي وضعها واطسن وكريك عام 1953 والتي اثبتت بان الحامض النووي هو عبارة عن شريطين يتحلزنان مع بعضهما وتترتب النيوكليوتيدات في هذا النموذج بطريقة خاصة تسمح بتوفير الخصائص المهمه اللازمة باعتباره المادة الوراثية .

ان عملية تضاعف الحامض النووي هي ببساطة ان يصبح فيها كل شريط منفصل من اشرطة الحلزون كقالب لتصنيع نسخة جديدة من الشريط . تحتاج هذه العملية تحطيم روابط الهيدروجين الموجودة بين القواعد لفصل الشريطين عن بعضهما وتوفر الينيوكليوتيدات الاربعة لغرض ربطها لتشكيل ازواج مع الشريط الاصلي(القالب) . ان الروابط الهيدروجينية التي تربط شريطي الحامض النووي ذات نوعية خاصة لكنها ضعيفة وسهلة الكسر بواسطة العديد من العوامل . هذه الروابط تتكون بشكل آلي عند توفر ظروف معينة ولكن في ظروف الخلية فان عملية تحطيم وبناء تلك الروابط يخضع للعديد من الانزيمات والبروتينات .

وعند تلائم نيوكليوتيدات حرة مع اقرب نيوكليوتيدات ابوية مناسبة (من شريط القالب)(وكأن يكون A مع T او C مع G) فان النيوكليوتيدات الحرة تترتب بطريقة يتم معها ربط مكوناتها مع السكر والفوسفات مع تلك الموجودة في الشريط الابوي . وهكذا يستمر ربط النيوكليوتيدات الحرة على طول الشريط الابوي حتى اكتمال الشريط الجديد . ويقال عن مثل هذا التضاعف بانه تضاعف شبه محافظ (Semiconservative replication) اي ان شريط واحد ابوي يبقى دائماً مع كل مزدوج حلزوني جديد (شكل6_18) .



شكل 6-18 :ارتباط النيوكليوتيدات الحرة مع الاشرطة المفردة الأبوية لتكوين سلاسل جديدة تبعاً للتضاعف شبه المحافظ .

شخص العالم أرثر كورنبرج (Kornberg , 1980) عدداً من القواعد الاساسية التي تسيطر على عملية تضاعف الحامض النووي في اي نظام حياتي وهذه القواعد هي :

1 ـ ان عملية التضاعف هي عملية شبه محافظة .

2 ـ ان كلاً من شريطي الحامض النووي تتضاعف عن طريق اضافة النيوكليوتيدات من النهاية الخامسة الى النهاية الثالثه 3^{-} - 5^{-}

3 ـ تضاعف الحامض النووي يحدث بشكل مستمر (continuous) في احد الاشرطة الذي يدعى الدال (Leading strand) بينما يكون متقطعاً في الشريط الثاني الذي يدعى بشريط التحميل (Lagging strand) .

4 ـ ان عملية التضاعف في قطع صغيرة تحتاج لبدئها قطعة من الحامض النووي تعمل كبادئة (Primer) لعملية التضاعف .

5 ـ ان التضاعف يبدأ من موقع معين يدعى بالاصل (Origin) وقد تحتوي جزئية الحامض النووي على موقع اصل واحد اواكثر .

6 ـ يبدأ التضاعف من موقع الاصل باتجاه واحد او اتجاهين وهو الغالب .

ان كل واحد من هذه القواعد الاساسية جاء من خلال جملة ابحاث عملية اجريت خلال الاربعين سنة الماضية وذلك ابتداءً من افتراض واطسن وكريك والقاضي بان كل شريطين من اشرطة مزدوجة الحامض النووي تعمل كقالب لتضاعف شريط جديد لتنتهي العملية بزوج جديد من الاشرطة .

التضاعف شبه المحافظ استناداً الى نظرية الحلزون المزدوج هو ان اشرطة الحلزون تنفصل عن بعضها حيث يقوم كل شريط مفرد بدور قالب لبناء نسخة متممة شبيهة تماماً لنسخة القالب او الشريط الابوي . تنتهي هذه العملية بتكوين زوجين من الاشرطة المزدوجة . يحتوي كل زوج على شريط ابوي وشريط جديد مماثل له . اثبتت التجارب العملية التي اجريت لمعرفة تضاعف الحامض النووي حصول مثل هذا النوع من التضاعف في جميع الاحياء . تم اثبات وجود التضاعف شبه المحافظ في حقيقيات النوى من قبل العلماء تايلور وودز وهاك عام 1957 (Taylor & Woods & Hughes) قام هؤلاء العلماء بتنمية القمم النامية لجذور الباقلاء (Vica faba) على وسط غذائي يحتوي على الثايميدين الموسم او المعلم نظير الهيدروجين الثالث (Tritium) ـ H^3 ولفتره أقل من دورة خلوية (5ـ 8 ساعات) . حيث ان الثايميدين موجود فقط في الحامض النووي فانه من السهولة عندئذ تعقب وتشخيص موقع الثايميدين على صبغيات خلايا القمم النامية وذلك من خلال تعقب النشاط الاشعاعي للثايميدين على الصبغيات من خلال شريط فوتغرافي حساس للاشعاعات التي يبعثها نظير الهيدروجين الثالث (H^3) .

بعد تعليم الخلايا بالثايميدين المشع تنقل القمم النامية للجذور بعد غسلها بالماء جيدا الى وسط غذائي يحتوي على الثايميدين الاعتيادي ومادة الكولسين

Coliechcine [مادة كيميائية تعرقل تكوين خيوط المغزل مما يمنع الصبغيات الشقيقة من الدخول في الطور الانفصالي (Anaphase) ومن ثم الحصول على خلايا ذات صبغيات مكررة في دورة خلوية واحدة (6 صبغيات ثنائيه الكروماتيدات] ويسمح للخلايا بالنمو في هذا الوسط لدورة خلوية واحدة (Cycle of doubling) . تنقل بعدها الخلايا الى شرائح زجاجية نظيفة معقمة حيث يتم تثبيت الخلايا بواسطة مزيج من الحامض (Glacial Acetic Acid)(حامض الخليك الثلجي) وكحول الايثانول . تغطى طبقة الخلايا بعدها بطبقة من الهلام الفوتوغرافي الحساس للاشعاعات القصيره المنبعثة من ذرات نظير الهيدروجين الثالث .بعد تحميض الشرائح الزجاجية المغطاه بالهلام فانه يتم مشاهدة موقع الثايميدين المعلم بنظير الهيدروجين الثالث بواسطة المجهر على شكل بقع فضية (شكل6_19) .

اثبتت نتائج الفحص المجهري لهذه الشرائح الزجاجية بأن البقع الفضية موجود على طول كروماتيدة واحدة في حين تختفي على الكروماتيدة الاخت الثانية . ان هذه النتائج اثبتت بان الكروماتيده الحاوية على البقع الفضية قد جاءت من الخليه الابوية الأولى التي تم تنميتها على وسط غذائي حاوي على الثايميدين المعلم بنظير الهيدروجين الثالث اما الكروماتيده الثانيه فقد جاءت من التضاعف شبه المحافظ للكروماتيده الابوية حيث كان انقسام الخلية الابوية في وسط غذائي يحتوي على الثايميدين عادي .

تضاعف الحامض النووي مع الثايميدين المعلم بنظير الهيدروجين H^3

الطور الاستوائي الأول

تضاعف الحامض النووي بدون ثايميدين معلم.

الطور الاستوائي الثاني

شكل 6 _ 19 : تخطيط لتضاعف الحامض النووي في الباقلاء حيث يلاحظ وجود كروماتيدة واحدة حاوية على البقع الفضية (أبوية)بينما تمثل الثانية الكروماتيدة المتضاعفة .

الاستنساخ Transcription :

على الرغم من ان عملية بناء الحامض النووي RNA لا تختلف من الناحية الكيميائية عن بناء الحامض النووي DNA حيث ان كلا العمليتين تتضمنان اضافة نيوكليوتيدات لبناء شريط الحامض النووي مع الاختلاف في بعض التفاصيل . الا انهما يختلفان على مستوى الوظيفة .

فعملية التضاعف تتضمن نقل دقيق وامين للمعلومات الوراثية بينما تتضمن عملية الاستنساخ نسخ تلك المعلومات لاجل تعبير المورثات عن نفسها وتلك اكثر تعقيداً . ان معظم معلوماتنا حول تعبير الموثات جاءت من دراسات قراءة تتابع الحامض النووي DNA والبروتينات التي تنظم الاستنساخ وخصوصاً انزيمات بلمرة الحامض النووي RNA .

يتم السيطرة على عملية الاستنساخ من قبل ثلاثة انزيمات بلمرة نووية مختلفة . تدعى هذه الانزيمات بانزيم بلمرة الحامض النووي الريبوزي الاول (RNA Polymerase I) وانزيم البلمرة الثاني (RNA Polymerase II) وانزيم البلمرة الثالث (RNA Polymerase III) . يمكن تمييز هذه الانزيمات عن بعضها من خلال موقعها الخلوي حيث يقع انزيم البلمرة الاول في النوية (Nucleous) بينما يقع انزيم البلمرة الثاني والثالث في الجدار النووي . كما تختلف وظيفة كل منهما حيث يكون الانزيم الاول مسؤولاً عن استنساخ الحامض النووي الرايبوسومي (r RNA) (18S - 28S) . (S : وحدة سافبرج التي تستند الى معامل الترسيب في الطرد المركزي وتستخدم لوصف الحامض النووي RNA) . والانزيم الثاني يكون مسؤولاً عن استنساخ الحامض النووي الرايبوسومي 5S والحامض النووي الناقل (t RNA) .

كما يمكن تمييز هذه الانزيمات الثلاثة من خلال حساسيتها لمضادات حياتية معينة .

ستنساخ الحامض النووي المرسال (m RNA) :

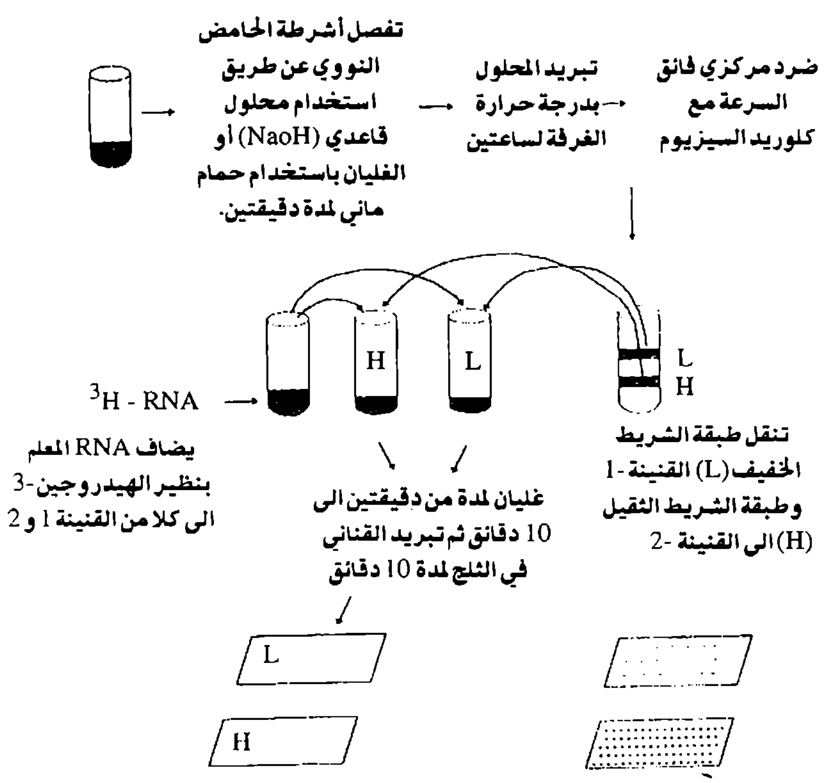
ان الاحماض الامينية ليست متأصراً مع الحامض النووي DNA بل ان هناك خطوة وسطية تعمل على ترتيب الاحماض الامينية في سلسلة عديد الببتيدوكما هو منظم في تتابع الحامض النووي DNA (المورثات) . تبدأ هذه الخطوة بانفصال شرطة الحامض النووي DNA عن بعضها البعض في الموقع المراد استنساخه . تبدأ بعدها عملية الاستنساخ في شريط مفرد واحد من مزدوج الحامض النووي DNA يدعى بالشريط المشفر او الشريط الحساس (DNA coding or sense strand) تنتهي بتكوين حامض نووي يمتلك نفس تتابع القواعد في شريط الحامض النووي لحساس . ويستخدم الشريط المشفر فقط في عملية الاستنساخ لانه يحتوي على معظم مورثات الكائن بينما يحمل الشريط الثاني الذي يدعى بالشريط غير لحساس (Anstisense strand) بعض المورثات .

لقد تم تمييز هذه الاشرطة عن بعضها واثبات الدور المهم لشريط الحامض النووي المشفر في عملية الاستنساخ بواسطة طريقة تدعى بتهجين الحامض النووي الجزيئي . استخدمت هذه الطريقة في بداية الستينات من قبل العالمان هال وسبيكلمان (Hall & Spiegelman,1969) . يتم في هذه الطريقة فصل اشرطة الحامض النووي DNAعن بعضها بواسطة استخدام قاعدة كيميائية مثل هيدروكسيد الصوديوم او درجة حرارة عالية . يتم بعدها تبريد محلول الحامض النووي بدرجة حرارة الغرفة (25 م°) حيث تعمل القاعدة الكيميائية او درجة الحرارة العالية على تحطيم الروابط الكيميائية التي تربط شريطي الحامض النووي مؤديه الى انفصالهما . ويساعد التبريد المتدرج بدرجة حرارة الغرفة على بقاء الاشرطة منفصلة دون عودتها الى الارتباط مرة أخرى . تفصل الاشرطة بعد ذلك بواسطة الطرد المركزي العالي باستخدام مدرج ملح كلوريد السيزيوم القاعدي حيث ينفصل الشريطان عن بعضهما في المدرج على شكل حلقتين احداهما تقع في الاعلى قريبة من السطح وهي ذات وزن جزيئي منخفض والاخرى في موقع ادنى

وذات وزن جزيئي اثقل . اطلق على الشريط المتجمع في المنطقة العلوية بالشريط الخفيف (L) اطلق على الثانية الشريط الثقيل (H) . ولقد وجد من التحليل الكيميائي المائي لهذه الاشرطة بان الشريط الثقيل غني بقواعد الجوانين والادنين فيما يحتوي الشريط الخفيف على كمية اقل من هذه القواعد . ان الاشرطة الثقيلة والخفيفة يمكن ان تتهجن بشكل منفصل مع الحامض النووي RNA . يتم ذلك بفصل طبقتي الاشرطة الثقيلة والخفيفة عن بعضهما من المدرج بسحب كل طبقة بشكل منفصل من المدرج الملحي باستخدام محقنة طبية . يتم بعدها مزج كل منهما مع حامض نووي معلم بنظير الهيدروجين H^3 ويسخن المزيج بدرجة حرارة عالية ثم يبرد بشكل مفاجئ بواسطة حمام ثلجي حيث يتكون هجين الاحماض النووية (RNA _ DNA)(شكل 6 _ 20) .

يتكون الهجين (RNA _ DNA) نتيجة تماثل في تتابع القواعد النيتروجينية في كلٍ من شريطي الحامض النووي DNA والحامض النووي RNA . ان حصول الهجين يؤكد بان الحامض النووي RNA في الهجين هو مستنسخ من شريط الحامض النووي DNA المرتبط معه . ان تحليل مزيج الهجين لكل من الشريط الخفيف والثقيل باستخدام محلول فوتوغرافي حساس جداً اثبت بان طبقة الشريط الثقيل هي الطبقة التي كونت الهجين لوجود نسبة كبيرة من الاشعاع الناتج من نظير الهيدروجين H^3 المرتبط مع الحامض النووي RNA بينما كانت طبقة الشريط الخفيف لا تحتوي الا على نسبة ضئيلة جداً من النشاط الاشعاعي . اكدت نتائج هذا التحليل بان الشريط الثقيل هو في حقيقة الامر الشريط الفعال في عملية استنساخ الحامض النووي RNA وهو ما يطلق عليه بالشريط المشفر او الشريط الحساس .

في بعض الرواشح والمايتوكوندريا والبلاستيدات وجد بان هناك بعض المورثات المشفرة موجودة على الشريط غير الحساس (L) في مثل هذه الحالة فان الاستنساخ يحصل في كلا الشريطين .



بعد تحميض الشرائح نلاحظ وجود العديد من التجمعات السوداء عند الفحص تحت المجهر الضوني في شريحة الشريط الثقيل (H) بينما تكاد تختفي في شريحة الخفيف (L).

تحضر شريحة من كل قنينة وتغطى بالهلام الفوتوغرافي وتحفظ بمكان مظلم بدرجة حرارة 20م لأسبوعين

شكل 6 _ 20 : طريقة التهجين (RNA _ DNA) . إثبات دور الشريط الحساس أو الشريط المشفر في عملية استنساخ الحامض النووي المرسال .

وفي جميع الاحوال فان الاستنساخ يتم باتجاه -3 ←-5 على طول القالب حيث تضاف النيوكليوتيدات الجديدة الى النهاية الثالثة بما ان اشرطة الحامض النووي DNA متعاكسة كما ان اتجاه الاستنساخ لتكوين الحامض النووي RNA يكون من النهاية الخامسة -5 الى النهاية الثالثة -3 فان تردد المورث يجب ان يبدأ من النهاية -3

ان ذلك مهم جداً عند مقارنة تتابع قواعد الاحماض النووية (m RNA, DNA) مع سلسلة عديد الببتيد الناتجة .

تحتوي النهاية الخامسة للحامض النووي على قواعد متممة لقواعد اخرى في النهاية الثالثه للحامض النووي الرايبوسومي في الريبوسوم . تساعد هذه على ارتباط الحامض النووي المرسال مع الريبوسوم لاجل الترجمة .

تعتبر هذه اول وظائف الرسائل التي يحملها الحامض النووي المرسال الا وهي الأرتباط الصحيح في منطقة مناسبة في الرايبوسوم لأجل ترجمة المناطق المشفرة من النهاية الخامسة حتى الثالثة . اما في النهاية الثالثة فتقع ترددات غلق عملية الترجمة .يتكون الحامض النووي المرسال الاولي الناتج من عملية الاستنساخ من تتابعات مشفرة تدعى بالمحاور (Exons) محاطة بتتابعات اخرى غير مشفرة تدعى بالمتداخلات (Introns) . يختلف عدد المحاور والمتداخلات في الحامض النووي المرسال الاولي (Primary m RNA) من كائن الى آخر . تفصل المحاور عن المتداخلات بواسطة عدد من التتابعات الخاصة التي تدعى بتتابعات العزل(Consensus Sequences) . يعتقد بان لهذه التتايعات دوراً رئيسياً في عملية تحوير الحامض النووي المرسال الاولي لاجل التخلص من قطع المتداخلات او التتابعات غير مشفرة .

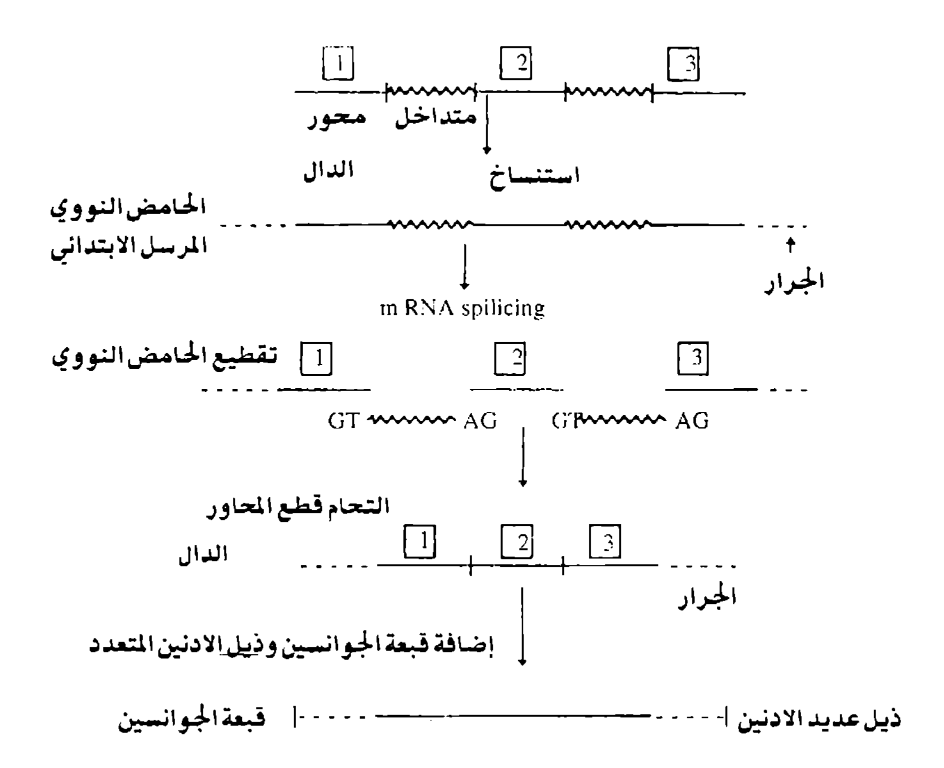
تتم عملية فصل المتداخلات عن المحاور من خلال هذه التتابعات . لذلك يعتقد بأنها تمثل أشارات خاصه وليس من المعروف فيما اذا كانت هذه التتابعات تمثل مناطق لأنزيمات قاطعة معينة .

فمثلاً في مورث بتيار جلوبين B _ globin في الارانب فان هناك 550 نيوكليوتيد غير مشفزة تقع بين الشفرات الخاصة بالحامض الاميني رقم 104و الحامض الاميني 105علماً بان عدد المناطق المشفرة المسؤوله عن الاحماض الامينية المكونه لسلسلة بيتا جلوبين تبلغ 149 . وعند ازالة التتابعات غير المشفرة (المتداخلات) فان موقع الشفرة الوراثية 104 سيجاور موقع الشفره الوراثية 105 في الحامض النووي المرسال النهائي . اما في مورث زلال البيض في الطيور فان الحامض النووي المرسال الآولي لهذا المورث يتكون من 7564 نيوكليوتيد تمثل ثمانية

ـحاور وسبعة متداخلات في حين يتألف الحامض النووي النهائي او ـضج (Mature m RNA) بعد ازالة المتداخلات من 1872 نيوكليوتيد تمثل 3؟؟ شفرة وراثية ثلاثية مكونة لبروتين زلال البيض والتي تبلغ 386حامضاً ـينياً .

اما المتداخلات المزالة فيتراوح طولها بين 52 الى 1589 نيوكليوتيد . ـعملية الثانية هي اضافة قبعة (Capping) لنهاية البيورين من النهاية خامسة غير مفهومة الاهمية للحامض النووي المرسال التي يعتقد بانها تؤدي الى حصول الترجمة بطريقة ما . كذلك اضافة ذيل من قواعد الادنين Poly (A) tail) في النهاية الثالثة . يعتقد بان اضافة ذيل الادنين يعمل على ـبط جزئية الحامض النووي المرسال مع جدار الشبكة الاندوبلازمية . لكن تبقى اضافة قبعة الجوانسين (7 _ methylguansin (m 6^7) بعد تحوير القاعده نيتروجينية الاخير لمنطقة الدال التي تقع في النهاية الخامسة غير مفهومة لاهمية . فيما يتم اضافة حوالي 200 نيوكليوتيد متتابعة من الادنين الى نهاية الثالثة . لا تحتوي جميع جزيئات الحامض النووي المرسال على غطاء في النهاية الخامسة . كما انه ليست لجميعها ذيول عديد الادنين وذلك ما يجعل من الصعب تحديد وظيفة هذه التحورات . بعد اكتمال التحورات المذكورة على الحامض النووي المرسال الاولي يكون شريط الحامض النووي المرسال الناضج قد اصبح جاهزاً لعملية الترجمة لانتاج البروتين (شكل 6 _21) .

لذلك يهاجر الحامض النووي من النواة الى السايتوبلازم حيث يرتبط مع الريبوسومات التي هي بيوت تصنيع البروتين . يدعى الحامض النووي في هذه المرحلة بالحامض النووي المرسال الناضج .



شكل 6 _21 : عمليات القطع والتحوير في الحامض النووي المرسال الابتدائي في الخلايا حقيقية النوى .

استنساخ الحامض النووي الناقل (t RNA)

اشارت نتائج التفاعلات الكيميائية التي اجريت حول ترجمة الشفرات الوراثية التي يحملها الحامض النووي المرسال الى بروتينات بانه لا يوجد اي تفاعل مباشر بين هذه الشفرات والاحماض الامينية لانتاج سلاسل عديد الببتيد وان هناك وسيطاً آخر يتدخل لاتمام العملية . لقد وجد بان هذ الوسيط هو نوع من الاحماض النووية الريبوزية القصيره التي يصل حجمها الى 4 وحدات سفيدبرج (4S) . تتألف هذه الوحدات من 70 _ 80 نيوكليوتيد طولاً . تحمل هذه الاحماض تتابعات ثلاثية القواعد تدعى الشفره المضادة

Anticodon) ويتوقع وجود واحد الى اربع من هذه الجزيئات لكل حامض اميني .
يتم استنساخ الحامض النووي الناقل الاولي (Pre _ t RNA) بنفس طريقة
ستنساخ الحامض النووي المرسال عدا بعض النقاط التي سيتم ذكرها .

بالاضافة الى ان استنساخ جزئية الحامض النووي الناقل يتم بواسطة انزيم
بلمرة الحامض النووي الثالث وليس الثاني . ان جزئية الحامض النووي الناقل
الأولي ليست اطول كثيراً من جزئية الحامض النووي الناقل الناضج (mature t
RNA) بعد ازالة التتابعات غير المشفرة الزائدة . ففي عملية تقطيع الحامض النووي
الرايبوزي فانه يتم ازالة التتابعات التي تمثل منطقة الدال من النهاية الخامسة .
تضاف بعدها القواعد ACC الى النهاية الثالثة وتزال عند ذلك التتابعات غير
المشفره لتكوين الحامض النووي الناقل الذي يحتوي على التتابع الثلاثي القواعد او
مضاد الشفرة المحمول على ذراع .ان التتابع الثلاثي القواعد في الحامض النووي
الناقل يمثل الموقع الذي يحمل الحامض الاميني في النهاية الثالثة والذي يكون
مكملاً للشفرة الوراثية المحمولة على الحامض النووي المرسال . ان عملية ما بعد
الاستنساخ التي تتم على جزئية الحامض النووي الناقل الاولي تتضمن استبدال
بعض القواعد الشائعة مثل الادنين ، سايتوسين ،جوانين ، يوراسيل الى قواعد غير
شائعة مثل الايونسين (I)(Ionisine) الذي يشتق اصلاً من الادنين بعد تحوير ذرة
الكربون السادسة وبالاضافة لذلك فان هناك قواعد غير شائعة اخرى مثل اليوردين
الكاذب واليوردين ثنائي الهيدروجين والجوانين احادي المثيل وغيرها .

استنساخ الحامض النووي الرايبوزي الريبوسومي (r RNA) :

ان احدى اكبر جزيئات الحامض النووي الرايبوزي التي لها اهمية في تصنيع
البروتين هي جزيئة الحامض النووي الريبوسومي .حيث تتألف جزيئة هذا الحامض
من عدة الاف من النيوكليوتيدات مقارنة مع 70 _ 80 نيوكليوتيد تؤلف الحامض
النووي الناقل . فيما يختلف طول الحامض النووي المرسال اعتماداً على طول

التتابعات المشفرة وغير المشفره فيه .فمثلاً ان الحامض النووي المرسال الخاص بمورث زلال البيض والذي يتألف من 1872 نيوكليوتيد فانه لا يساوي الا نصف طول اطول جزيئات الحامض النووي الريبوسومي . ان الطريقة التقليدية لوصف ومعرفة نوع جزيئات الحامض النووي الريبوزي والريبوسومي هو إستناداً الى معامل ترسيبها (Sedimentation cofficient) والذي يسمى بوحدة سافبرج Svedbreg unit ويرمز لها بـ (S) . تحسب هذه المعاملات من ترسب هذه الجزيئات في الطرد المركزي لمدرج سكري (Sucrose _ gradient) ويمكن وصف الريبوسومات وتحت الوحدات الريبوسومية باستخدام قيمة (S) . ان كل ريبوسوم يتألف من تحت وحدتين غير متساوية وهما تحت الوحده 50S وتحت 30S كما هو الحال عليه في الاحياء بدائية النوى ولهما القيمه 70S . اما الريبوسوم في الاحياء حقيقية النوى فانه ذو قيمة 80S ويتألف من تحت الوحدات 60S , 40S .

وبما ان الهيئة والوزن الجزيئي هما العوامل المهمة لتحديد الترسيب فان قيمة (S) لكلا تحت الوحدتين هو اكبر من قيمة (S) للريبوسوم في ترسيب اختباري . لذلك فان طول الحامض النووي الرايبوسومي 16S لا ينعكس على قيمة (S) له . وفي كلا الاحياء بدائية النوى وحقيقية النوى فان عملية الاستنساخ تؤدي الى تكوين جزئية حامض نووي ريبوسومي طويلة تدعى بالحامض النووي الرايبوسومي الاولي . ويقوم أنزيم بلمرة الحامض النووي الرايبوزي باستنساخ الحامض الرايبوسومي 28S - 18S فيما يقوم انزيم البلمرة الثالث باستنساخ الحامض النووي الريبوسومي 5S .

وتؤدي عمليات ما بعد الاستنساخ الى انشطاره الى أجزاء بواسطة الانزيمات .بالاضافة لعمليات الانشطار التي تحدث بعد الاستنساخ فانه يحدث اضافة مجاميع المثيل للكثير من نيوكليوتيدات الحامض .

يختلف طول الحامض النووي الريبوسومي الاولي حسب الانواع . ففي

حشرات يكون 37S والبرمائيات 40S واللبائن 45S . وفي جميعها فان عمليات ما بعد الاستنساخ تؤدي الى تقطيعه الى جزيئتين هما جزيئة حامض النووي الريبوسومي 18S وجزيئة اخرى تتراوح بين 25 S _ 28S . هناك عديد من نسخ المورثات الخاصة بالحامض النووي الريبوسومي في المادة وراثية للاحياء جميعاً . وتقع نسخ المورثات الخاصة بالحامض النووي ريبوسومي في تكرارات خاصة يطلق عليها بالكروماتين النووي (Nucleolar chromatin) وهي جزء من منطقة تدعى بمنطقة تنظيم نووي (م . ت . ن)(Nucleolar _ organization.)

الفصل السابع

المايتوكوندريا والطاقة

Mitochondria and Energy

مقـــدمة :

توجد المايتوكوندريا في جميع أنواع الخلايا بأستثناء خلايا الدم الحمراء في الانسان وبعض الاحياء بدائية النواة كالبكتيريا وتنتشر في السايتوبلازم على هيئة أشكال مختلفة . فهي أما على شكل كريات أو عصيات أو بيضوية أو أجسام خيطية ويتغير شكلها وحجمها تبعاً لفاعلية الخلايا ولكنها في جميع الاحوال لا يزيد حجمها عن 10 مايكروميتر وثابتة الشكل تقريباً في النوع الواحد من الخلايا . تتميز الخلايا المنتجة لكميات كبيرة من الطاقة بعدد كبير من المايتوكوندريا الكبيرة الحجم والمعقدة التركيب كما هو الحال في الخلايا الجدارية الفارزه لحامض الهيدروكلوريك في المعدة وخلايا العضلات القلبية وخلايا الدهون البنية . أن الخلايا الجدارية تعمل على تركيز أيونات الهيدروجين بمستويات عالية جداً بسبب الاختلاف في الاس الهيدروجيني PH بين العصير المعدي (PH =1.0) والغطاء السكري المغلف للمعدة (PH =7) . لذلك فأن هذه الخلايا بحاجة الى طاقة كبيرة لمقاومة الفرق في التركيز . كما أن العمل المتواصل والشاق الذي تقوم به خلايا العضلات القلبية يجعلها تحتاج أيضاً لطاقة مستمرة وهائلة . أما خلايا الدهون البنية فأنها تعمل على إطلاق طاقة الدهون على هيئة حرارة لتدفئة الاحياء التي تدخل السبات الشتوي للحفاظ علي حياتها .

قد يصل عدد المايتوكوندريا في مثل هذه الخلايا الى اكثر من الف للخلية الواحدة بينما تكون قليلة العدد في خلايا مثل الخلايا اللمفاوية .

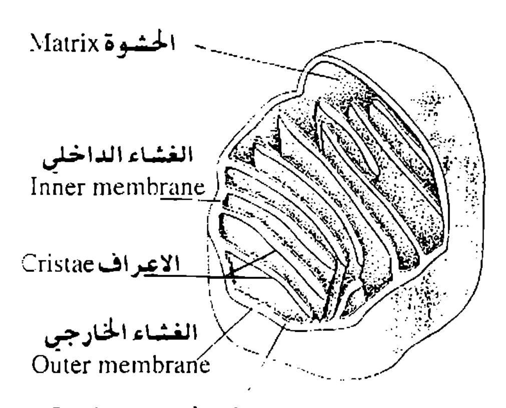
الفحص المجهري الكيميائي للمايتوكوندريا :

يمكن رؤية المايتوكوندريا تحت المجهر بعد صباغة النماذج بالايوسين أو الهيماتوكسلين الا انها تظهر واضحة جداً عند أستخدام الهيماتوكسلين الحديدي وأخضر جنسن B حيث تتأكسد محتوياتها مسببة الوانا غامقة يمكن تمييزها بوضوح (شكل 7 - 1) .

أما عند فحصها بالمجهر الالكتروني فأن التراكيب الداخلية لها تظهر واضحة وتبدو كعصيات مزدوجة الغشاء معقدة التركيب الداخلي . تحاط المايتوكوندريا بغشاء خارجي أرق من الغشاء البلازمي يبلغ سمكه حوالي 7 نانوميتر أملس الطبيعة يتألف من البروتينات والدهون وتمثل البروتينات اكثر من 70% من مكوناته بينما تمثل الدهون بأنواعها كالدهون المفسفرة والكوليسترول حوالي 25 - 30% .



بينت الفحوصات الهستوكيميائية التي أجريت على أغشية المايتوكوندريا بأن السطح الداخلي لهذا الغشاء يحتوي على العديد من الانزيمات التنفسية مثل أنزيمات Monoamine oxidase و Cytochrome C reductase و COA Ligase و Succinic de-hydrogenase وغيرها .



الشكل 7 - 1 : صورة بالمجهر الالكتروني لعضية مايتوكوندريا (أعلى) وتخطيط للصورة موضحاً عليه أجزاء المايتوكوندريا (أسفل) .

يفصل الغشاء الخارجي للمايتوكوندريا عن غشائها الداخلي فسحة أو فراغ يبلغ عرضه حوالي 6.5 نانوميتر يسمى بالفراغ الخارجي Outer space .

أما الغشاء الداخلي فيتميز ببروتيناته العالية حوالي 85% تمثل

ـسبة كبيرة منـهـا أنـزيمات ومـواد مسـاعـدة لسلسـلة النـقـل الالـكـترونـي .

يبلغ سمك الغشاء الداخلي حوالي 8 نانوميتر ويتميز بأنثناءاته المتميزة التي تؤلف ما يسمى بالاعراف او القنازع Cristac التي تترتب بطرق مختلفة داخل الفراغ الداخلي للمايتوكوندريا Inner space .

يحتوي الغشاء الداخلي على عدد كبير من الانزيمات التنفسية والعوامل المساعدة مثل NADH dehydrogenase و Co- enzyme Q وسايتوكرومات b و C و C1 و a و a_3 و Succinic dehydrogenase و Iron-sulphur proteins و NAD^+ و FAD وتتركز هذه عادة على الاعراف الممتدة نحو الفراغ الداخلي . هذا أضافة لوجود أملاح لاعضوية عديده أبرزها الكالسيوم والمغنيسيوم .

تمتد أعراف الغشاء الداخلي نحو فراغ المايتوكوندريا بأشكال وهيئات مختلفة أضافة لاختلاف طبيعتها وعددها . تبدو الاعراف أما على هيئة حواجز أو تراكيب أنبوبية شبيه بالزغابات تمتد أما بصوره غير كاملة أو كاملة أو متشابكة . فالاعراف الحاجزية تترتب على هيئة أزواج متقابلة بحيث يقابل حاجز ممتد من جهة لحاجز أمامه ممتد من الجهة الثانية وقد تمتد حتى تلتحم مع السطح الداخلي للغشاء الداخلي المواجهة لها بحيث تقسم فراغ المايتوكوندريا الى ردهات متعددة . قد تتفرع هذه الحواجز أيضاً مؤديه الى زيادة عدد الردهات الداخلية . تنحرف الاعراف الحاجزية القصيرة المتقابلة عن بعضها بحيث تتداخل الاعراف المتقابلة مع بعضها معطية هيئة معقدة لداخل المايتوكوندريا . كما يمكن مشاهدة الاعراف مرتبة على هيئة دوائر متحدة المركز كما هو في مايتوكوندريا بعض العضلات القلبية .

أما الاعراف الانبوبية التي يمكن مشاهدتها في مايتوكوندريا خلايا الابتدائيات والغدد الكظرية والجسم الاصفر وخلايا أنابيب مالبيجي في الحشرات والخلايا الطلائية المبطنة للمجاري التنفسية والخلايا الكبدية والعصبية فأنها تكون على هيئة أنابيب مفردة أو متفرعة تتشابك بطريقة غير منتظمة داخل

فـراغ المايتـوكـوندريـا الداخـلي . تحتـوي الاعـراف الانـبوبيـة فـي نـهايتـهـا علـى منطقـة متوسعـة علـى هيـئة الحويصـلات أو الاكـياس .

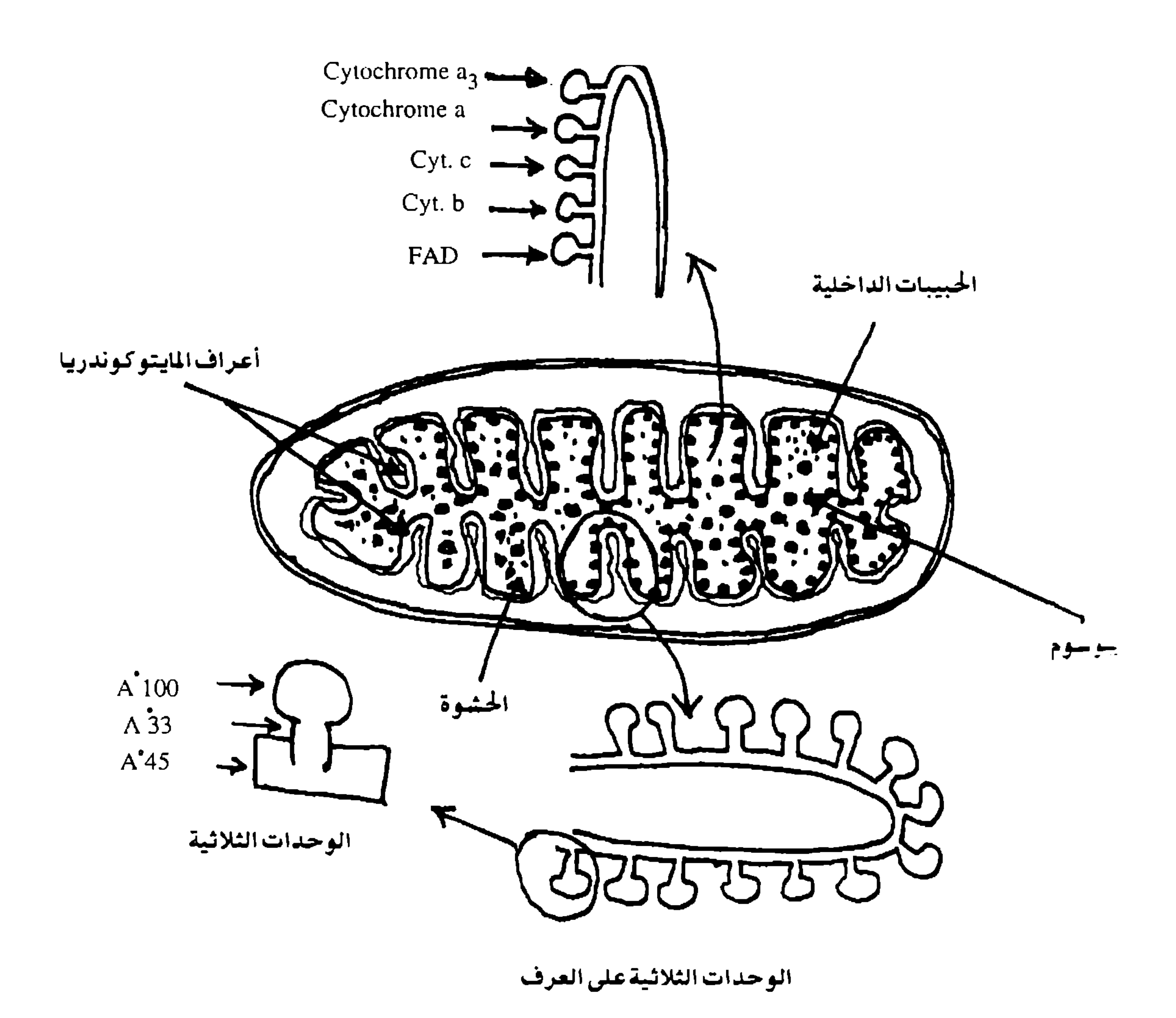
في بعض الخلايا يمكن مشاهدة توزيع غير منتظم للاعراف داخل المايتوكوندريا فقد نجد كثافة وتشابك لها في جهة من المايتوكوندريا بينما تحتوي الجهة المقابلة على عدد قليل من الاعراف .

تمتد الاعـراف عادة بصورة عـرضية داخل المايتـوكوندريا الا أنه من الممكن في بعض الانواع أن تمتـد بصـورة طوليـة من أقطاب العـضـيـة كـمـا هو الحـال في مايتوكوندريا الديدان الطفيلية . ويمكن مشاهدة أمتدادات مختلفة للاعراف عرضية وطوليـة مـائلة في مـايتـوكـوندريا خـلايا مـثل خـلايا العـضـلات الـهـيكليـة وخـلايا الانيبوبات البعيدة الملتوية في الكلى .

يختـلف عـدد الاعـراف الموجـودة في المايتـوكـوندريا أيضـاً فـفي مـايتـوكـوندريا العضـلات الـهيكليـة والمخططة عـمـوماً والحـيـوانات المنوية والخـلايا الدهنيـة الملونة وخلايا عصي شبكية العين وخلايا الانيبوبات الملتوية الكلوية يكون عدد الاعراف كبير جداً بحيث تشغل معظم فراغ المايتوكوندريا . أما في الخلايا الهدبية وخلايا الكبد والخلايا المبطنة للقنوات التنفسية فأن لمايتوكوندرياتها أعراف قليلة .

تظهر صور المجهر الالكتروني للاعراف بأنهـا تحتـوي على نتؤات نحو الخـارج مؤلفة من وحدات ثلاثية تمثل مواقع تركز الانزيمات التنفسية (راجع فصل الاغشية الخلوية) حيث بينت الفحوصات الهستوكيميائية تجمع هذه الانزيمات على هيئة تجمعات أو صفوف متكررة تدعى بالاوكسي سومات Oxysomes أو Elementary Particles . يحتوي الفراغ الداخلي للمايتوكوندريا على مادة بينية أو حشوة تختلف في كثافتها وتحتوي على حبيبات كثيفة دائرية بقطر حوالي 50 نانومـيتـر تدعى بحبيبـات المايتوكوندريا الـداخلية Intramitochondrial granules . ويعـتـقـد بأنها مواقع تأصر آيونات الكالسيوم . كما تحتوي حشوة المايتوكوندريا على معظم الانزيمات التنفسـية المعـروفة أضـافة لايونات ونيوكليوتيـدات وتراكـيب بلورية وريبـوسـومـات

وأحماض نووية ريبوزية . وتبلغ قيمة ترسيب ريبوسومات المايتوكوندريا 55S وتساهم هذه في توفير البروتينات اللازمة للمايتوكوندريا (شكل 7 - 2) .



شكل 7 - 2 : التركيب الدقيق لاعراف المايتوكوندريا موضحاً فيه ترتيب السايتوكرومات في الوحدات الثلاثية .

للمايتوكوندريا مادة وراثية خاصة بها mt DNA موجودة على هيئة خيوط مزدوجة لولبية أو على هيئة حزم أو تجمعات . يبلغ حجم DNA المايتوكوندريا في خلايا الانسان 16,596 زوج قاعدي (bp) بينما يبلغ في الخمائر حوالي خمسة مرات ذلك (حوالي 50,000 زوج قاعدي) ويمثل اكبر مجين مايتوكوندري في الطبيعة .

لكن في كل الاحوال فأن حجم مجين المايتوكوندريا يساوي تقريباً مجين البكتيريا الصغيرة الحجم ويمثل بالنسبة للخمائر 10 - 20% من مجين خلية الخميرة . يختلف الحامض النووي المايتوكوندري في بعض خصائصة الفيزيائية عن نظيره الصبغي أو الكروموسومي . اذ يكون اقل كثافة حيث تبلغ كثافته في الخميرة حوالي 1.683 غم/سم^3 مقارنة بـ 99 1.6 غم/سم^3 بالنسبة للحامض النووي الصبغي . كما انه يحتوي على نسبة عالية من ازواج القواعد GC حيث تبلغ 40% . يتضاعف الحامض النووي المايتوكونديري بصورة مستقلة عن الحامض النووي الصبغي شأنه شأن البلازميد والبلاستيدات . اذ يمكن للميتوكوندريا ان تتضاعف على الرغم من عدم انقسام الخلايا . وهذا ما يؤكد بان البروتينات اللازمة للتضاعف تختلف ولو جزئياً عن تلك المستخدمة في تضاعف الحامض النووي الصيفي .

وعلى الرغم من عدم وجود تفاصيل حول عملية تضاعف الحامض النووي المايتوكوندري الا انه يحدث بصورة مستقلة عن النواة . كما انه يستغرق وقتاً طويلاً لاكماله بحيث يساوي اكثر من الوقت اللازم لدورة خلوية كاملة .

وعلي الرغم من حجم الحامض النووي المايتوكوندري الا انه لا يشفر الا لعدد قليل من البروتينات (سبعة بروتينات في الخميرة) وجزيئتان من الحامض النووي الريبوسومي (15S و 21S) وجميع جزيئات الحامض النووي الناقل اللازمة لتصنيع هذه البروتينات (24 - 25 جزيئة حامض نووي ناقل) .

اما البروتينات الداخلة في المايتوكوندريا وجزيئات انزيم بناء الاميناسيل (20

جزيئة) الموجودة فيها وجميع انزيمات تضاعف واستنساخ الحامض النووي المايتوكونديري فانها مشفرة في مورثات موجودة في الحامض النووي الصبغي . وعلى ذلك فان حجم مجين المايتوكندر اكبر من حاجتها وهذا ما يجعل الامر لغزاً محيراً علي الرغم من وجود الكثير من التتابعات غير المشفرة في الاحياء حقيقية النوى مثل تتابعات الحامض النووي (Satellite DNA) والمتداخلات . لكن يعتقد بأن السبب ربما يعود الى الدور التطوري للمايتوكوندريا من خلال اضافة تتابعات متطورة جديدة للأحياء . حيث ان معدل الطفرات الوراثية فيه عالي . ان الحامض النووي المايتوكوندري في جميع اللبائن لا يمتلك متداخلات ضمن مورثات الا انه يمكن إيجاد مثل هذه التتابعات في الاحياء حقيقية النوى البدائية . ان وجود المعدل العالي للطفرات الوراثية في الحامض النووي الميتوكندري يساعد في دراسة بعض الجوانب الجزيئية له . فقد وجد بان حصول الطفرات الوراثية التي تسمى افرادها بتيت (petite) (يتميز افرادها بصغر الحجم وقلة استفادتها من الاكسجين عند تمثيل الهيدروكربونات ولا تنمو الا بوجود وسط غذائي مقوى بالجلوكوز) ينتج عن فقدان نشاط انزيم اكسدة السايتوكروم (Cytochrome Oxidase) الذي يؤدي الى تقزم هذه الخلايا . ان مثل هذه الطفرات اعطت دليلاً على اهمية هذا الحامض النووي في حصول تغيرات موروثة . كما ان الدراسات السايتولوجية لبعض الاحياء كالبراميسيوم اثبتت بان لهذا الحامض النووي دوراً مهماً في توارث بعض الصفات كمقاومة المضاد الحيوي الارثومايسين .

يختلف الحامض النووي المايتوكوندري عن الحامض النووي الصبغي في بعض النقاط كاختلاف قراءة الشفرة الوراثية . فقد وجد من دراسة الحامض النووي المايتوكوندري في الانسان والخميرة بان هناك اختلافاً في قراءة الشفرة الوراثية في الحامض النووي المايتوكوندري لهما عن الشفرات الوراثية الكونية المعروفة بالنسبة للحامض النووي الصبغي . ففي الحامض النووي المايتوكوندري في الانسان وجد بان هذه الاختلافات تتضمن النقاط التالية :

1. الشيفرة UGA ليست شفرة توقف ولكنها تشفر للحامض الاميني تربتوفان

ولذلك فان مضاد الشفرة الخاص بالحامض النووي للتربتوفان المايتوكوندري يميز كلا من UGG و UGA طبقاً لنظرية الارجوحة .

2. الميثونين الداخلي يشفر بواسطة AUG و AUA بينما يشفر اصلاً بواسطة الشفرات AUG و AUA و AUU و AUC .

3. الشفرات AGA و AGG التي تمثل الارجنين (هناك شفرات اخرى للارجينين) تمثل بالنسبة للحامض النووي المرسال المايتوكوندري تتابعات توقف وهذا يؤدي الى وجود اربعة تتابعات توقف في المايتوكوندريا وهي AGG و AGA و UAG و UAA . ويظهر بأن الحامض النووي الناقل المايتوكوندري يختلف اختلافاً جوهرياً عن جزيئات الحامض النووي الناقل الاخرى فيما يخص تنظيمه وتعامله مع الريبوسوم المايتوكوندري (Mitoribosomes) . وهذا يؤكد وجود اختلاف في عملية استنساخ الحامض النووي المرسال ووظيفته .

أطلاق الطاقة في المايتوكوندريا :

تمثل المايتوكوندريا موقع جميع الانزيمات والعوامل المساعدة اللازمة لعملية إطلاق الطاقة من خلال دورة الاحماض الثلاثية TCA أو دورة كربس وسلسلة النقل الالكتروني . تنطلق الطاقة على هيئة جزيئات تدعى بالادينوسين ثلاثي الفوسفات Adenosine triphsphate ويرمز له بـ ATP . يتألف هذا الجزيء من قاعدة الادنين النتروجينية وسكر خماسي ريبوزي وثلاثة مجاميع فوسفات .

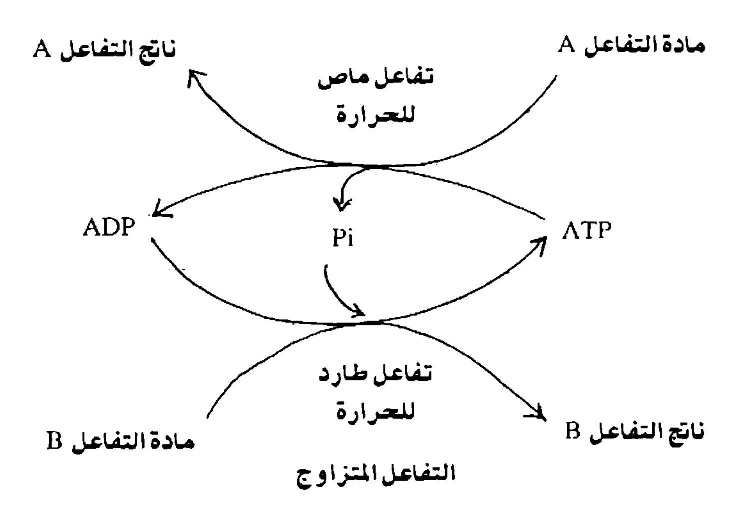
يتولد هذا الجزيء أما بتحول المركب أدينوسين ثنائي الفوسفات ADP الى ATP بعد أضافة مجموعة فوسفات أو بتحول المركب أدنيوسين أحادي الفوسفات AMP الى ATP بعد أضافة مجموعتي فوسفات وتتم عملية خزن الطاقة في روابط الفوسفات التي تتولد عند ربط مجاميع الفوسفات (شكل 7 - 3) .

أن تحول المركبين ADP و AMP الى ATP يحصل بصورة سريعة وتستهلك هذه الجزيئات حال تولدها حيث يترافق دائماً مع تولد جزيئات الـ ATP تفاعلات

مستهلكة لـه . تعـرف مثـل هـذه التفـاعـلات بالتفـاعـلات المتزاوجـة . لـذلـك فـإن هـناك دورة دائمـة لهـدم وأعـادة بنـاء جزيـئات الـ ATP فـي الانظمـة الحيـة .

N N N N O CH_2O - P P P
جزيئة ATP
OH OH

أنتاج الـ ATP ATP ← Pi ADP ← Pi AMP



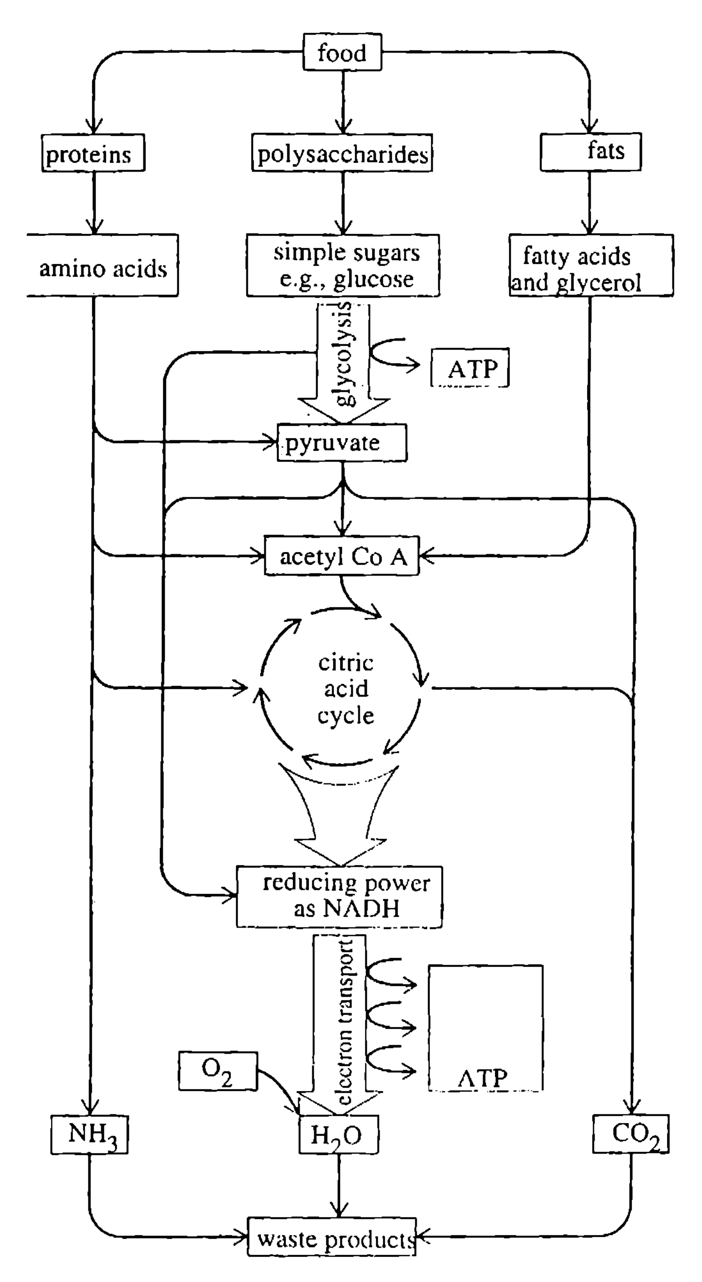
شكل 7 - 3 : جزيئة الطاقة ATP وطريقة توليدها واستهلاكها عبر التفاعلات المتزاوجة .

تتم عملية نقل الطاقة وتوليد جزيئات ATP عن طريق تفاعلات الاكسدة والاختزال . أن فقدان الكترون من مادة مختزلة وأستقراره في مادة مؤكسدة يتطلب أنطلاق طاقة . تعتمد كمية هذه الطاقة على الفرق بين مقدرتي المادة المختزلة (الواهبة للالكترون) والمؤكسدة (المستلمة للالكترون) على أعطاء الالكترونات وهو ما يسمى بالضغط الالكتروني حيث تنساب الالكترونات خلال هذا النظام من المواد ذات الضغط الالكتروني العالي الى المواد ذات الضغط المنخفض . وبأنتقال الالكترونات تنساب الطاقة بتدرج ليتم تحويلها الى جزيئات ATP عن طريق الفسفرة التأكسدية (شكل 7 - 4) .

أن أحتراق المواد في التنفس يولد الكثير من الطاقة والحقيقة أن كمية الطاقة المخزونة في جزيئات ATP أقل بكثير من الطاقة المنطلقة حيث يذهب معظم الطاقة المتسربة الى تدفئة الخلايا وتكوين أواصر كيميائية لتوليد مركبات أخرى مختلفة .

فمثلاً تبلغ الطاقة المخزونة في جزيئة جلوكوز 686 كيلو سعره يتم أستخلاص 277 كيلو سعره منها لبناء 38 جزيئة ATP فيما يتسرب 409 كيلو سعره كحرارة داخل الخلية .

جزيئة ATP ليست الوحيدة التي توفر الطاقة اللازمة للتفاعلات البايوكيميائية بل هناك جزيئات أخرى تشابهها في التركيب وتحتوي على روابط فوسفورية غنية بالطاقة مثل اليوردين ثلاثي الفوسفات UTP Uridine triphoshate وجوانسين ثلاثي الفوسفات GTP Guanosine tri-phosphate . أضافة للروابط الكبريتية الغنية بالطاقة ومع ذلك فأن جزيئة ATP تبقى المصدر الرئيسي للطاقة في الخلايا .



شكل 7 - 4 : المراحل العامة لتحطيم المركبات العضوية الكبيرة لانتاج الطاقة خلال الفسفرة التأكسدية .

الفسفرة التأكسدية للجلوكوز Glycose Oxidative Phosphorylation :

يتم إطلاق الطاقة من الجلوكوز داخل المايتوكوندريا بعد تحويله أولاً الى مركب أستيل كو أنزيم A Acetyl-co enzyme A (Acetyl-co A) في السايتوبلازم عبر عدد من التفاعلات الكيميائية التي تدعى بمسار أمبدن – مايرهوف أو الجلايكولسز Glucolysis (شكل 7 - 5) .

في هذا المسار يدخل الجلوكوز تفاعلين ماصين للطاقة يتم خلالهما فسفرة الجلوكوز حيث يتحول في التفاعل الاول الى مركب جلوكوز 6 – فوسفات/ فركتوز 6 – فوسفات ويتحول هذا في التفاعل الثاني الى المركب فركتوز 1 - 6 فوسفات ويستهلك في هذين التفاعلين جزيئتين من ATP . ينشطر بعدها المركب الاخير لانتاج جزيئتان من السكر الثلاثي جليسرول الدهايد – 3 – فوسفات التي تدخل تفاعلات أخرى تتحول في نهايتها الى بايروفات (حامض البايروفك) التي لا تلبث أن تتحول الى أستيل COA تدخل دورة الاحماض الثلاثية في المايتوكوندريا .

تنطلق خلال عملية تحول الجلوكوز الى

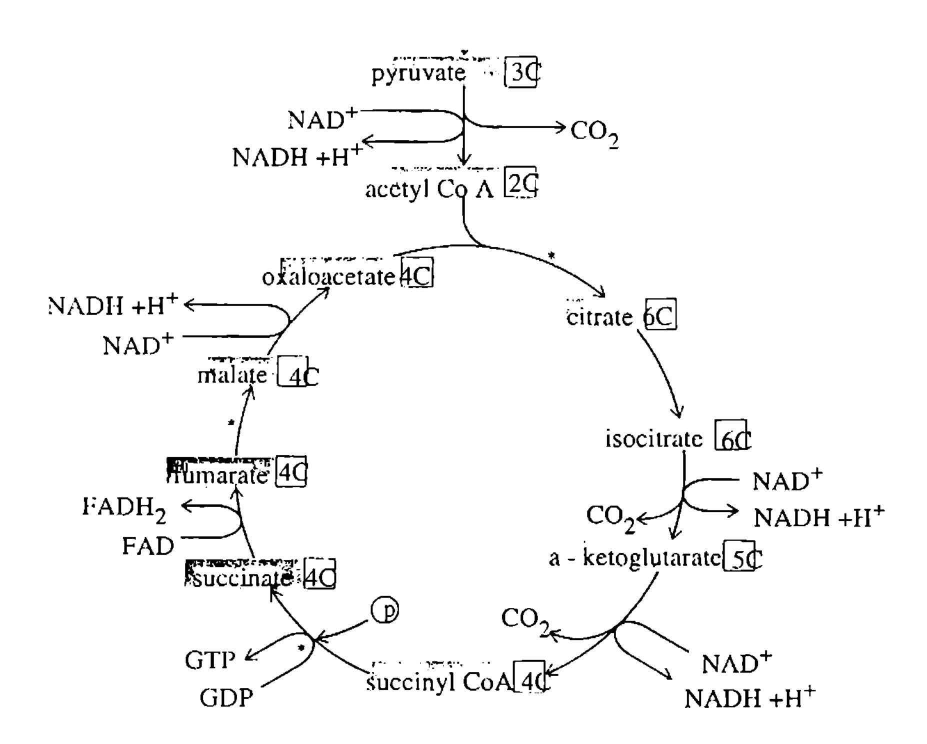
glucose
ATP
ADP
1
glucose 6 - phosphate
2
fructose 6 - phosphate
ATP
ADP
3
fructose 1,6 - diphosphate
4
glyceraldehyde 3-phosphate x2
P
NAD^+
NADH
5
1,3 - diphosphoglycerate x2
ADP
ATP
6
3 - phosphoglycerate x2
7
2- phosphoglycerate x2
8
phosphoenolpyruvate x2
ADP
ATP
9 oxaloacetate x2
pyruvate x2

شكل 7 - 5 : مراحل تحويل الجلوكوز الى بايروفات خلال مسار أمبدن – مايرهوف أو الجلايكولسز Glycolysis .

آستيل COA عدداً من جزيئات ATP ومركبات الطاقة الوسيطة NADH .

في بعض الخلايا قد يكون المستلم النهائي للالكترونات مركبات أخرى غير حامض البايروفك مثل النترات والكبريتات والكربونات وغيرها . كما يذكر بأن ثلثي ذرات الكاربون المؤلفة للمواد الغذائية تتحول الى آستيل COA .

تدخل جزيئات الاستيل COA دورة الاحماض الثلاثية أو دورة كربس حيث يتحول خلالها الى دورة من الاحماض الثلاثية تبدأ بالسترات Citrate وتنتــهي بالاوكزلات Oxaloacetate (شكل 7 - 6) .

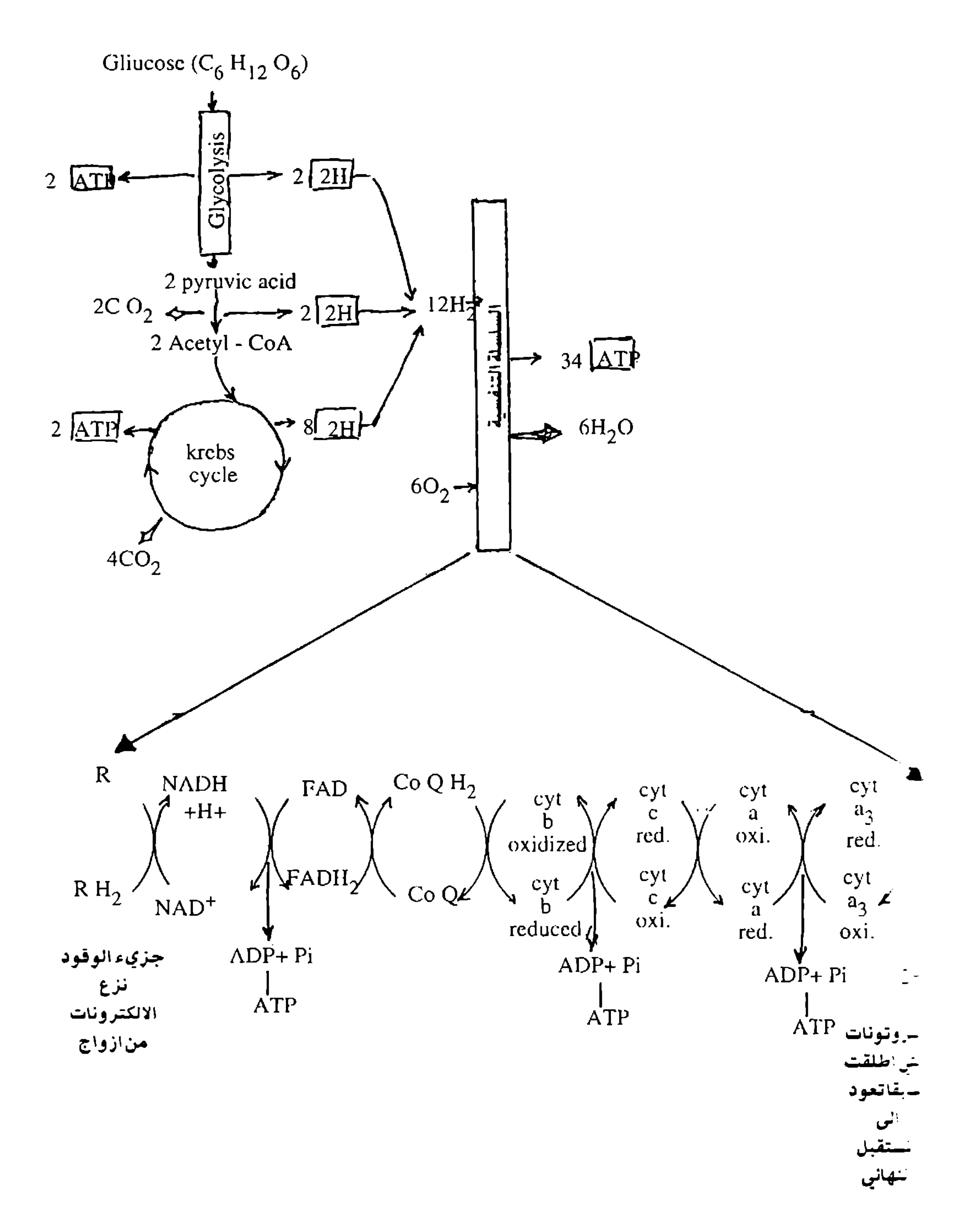


شكل 7 - 6 : دورة الاحماض الثلاثية TCA أو دورة كربس التي تدخلها جزيئات الاستيل COA لأطلاق بعض الطاقة وعدد من مركبات الطاقة الوسيطة NADH و FADH2 .

تنطلق خلال هذه الدورة كمية من الطاقة يتم تخزينها في عدد من جزيئات ATP و GTP زائداً مركبات طاقة وسيطة NADH و FADH2 . كما تنطلق خلال مسار أمبدن – مايرهوف ودورة كربس عدداً من جزيئات ثاني اكسيد الكاربون والماء كنواتج جانبية . تتولد من مسارات الطاقة السابقة 12 جزيئة هيدروجين يرتبط بعضها مع مركبات NAD و FAD لأنتاج وسائط الطاقة NADH و FADH2 ويبقى بعضها على هيئة ذرات .

تدخل جميع ذرات الهيدروجين الناتجة عن المسارات السابقة بما فيها تلك المرتبطة مع وسائط الطاقة سلسلة النقل الالكتروني التي تتوفر أنزيماتها أو سايتوكروماتها على الوحدات الثلاثية لاعراف الغشاء الداخلي للمايتوكوندريا . خلال سلسلة النقل الالكتروني تنشطر كل ذرة هيدروجين مولدة أيون هيدروجين موجب H^+ والكترون .

يرتبط كل أيونين من أيونات الهيدروجين الناتجة عن الانشطار مع ذرة أوكسجين واحدة (مستقبل نهائي) لانتاج جزيئة ماء . فيما تنتقل الالكترونات عبر سلسلة النقل الالكتروني . ينطلق من خلال أنتقال الالكترونات من موقع الى آخر في السلسلة كمية من الطاقة يتم خزنها في مركب ATP وفي نهاية الدورة الالكترونية يتولد 34 جزيئة ATP وستة جزيئات ماء وتنتهي عند ذلك اكسدة الجلوكوز حيث يتولد في نهاية العملية 40 جزيئة ATP وتستهلك فسفرة الجلوكوز جزيئتا ATP ليصبح صافي الطاقة التي يتم الحصول عليها في الاكسدة 38 جزيئة ATP من كل جزيئة جلوكوز واحدة (شكل 7 - 8) .



شكل 7 - 8 : مواقع أنطلاق ذرات الهيدروجين في مسار أمبدن - مايرهوف ودورة كربس اللازمة لدورة سلسلة النقل الالكتروني لاطلاق المزيد من الطاقة .

وظائف أخرى للمايتوكوندريا :

يعتبر أطلاق الطاقة هو الوظيفة الرئيسية في المايتوكوندريا . الا ان هناك وظائف أخرى تقوم بها منها قدرتها الكبيرة على تركيز أيون الكالسيوم لاكثر من 25% من وزنها وعلى هيئة فوسفات الكالسيوم .

يستخدم الكالسيوم المايتوكوندري كعامل مساعد في كثير من التفاعلات التي تجري في حشوة المايتوكوندريا وعلى أغلفتها . ويعتقد بأن الحبيبات التي تنتشر في حشوة المايتوكوندريا هي مواقع تخزين هذه الايونات .

تحتوي حشوة المايتوكوندريا على عدد من الريبوسومات أضافة لجزيئات من الحامض النووي الناقل t RNA وأشرطة مزدوجة من الـ DNA وهو ما يعزز الاعتقاد بأن للمايتوكوندريا القدرة على تصنيع على الاقل بعض بروتيناتها اللازمة لعمليات الاكسدة والاختزال وغيرها . كما شوهدت بعض الصفائح المحية في مايتوكوندريا بيوض بعض القواقع مما يؤكد دورها في بناء البروتينات .

أضافة لذلك فأن المايتوكوندريا تحتوي على بعض الانزيمات التى لها علاقة بتحويل الكوليسترول الى سترويدات وهو ما يعني وجود دور لها في بناء الدهون . كما يعتقد بأن لها دوراً في بناء الحديد الضروري لبعض المساعدات الانزيمية التنفسية . وحديثا أثبت بأن للمايتوكوندريا دور كبير في موت الخلايا المبرمج Apotosis .

تضاعف المايتوكوندريا :

للمايتوكوندريا مادة وراثية مستقلة تمكنها من الانقسام المستقل عن الخلايا . ولا بد أن يتبع DNA المايتوكوندريا التضاعف شبه المحافظ المعروف في كافة الاحياء .

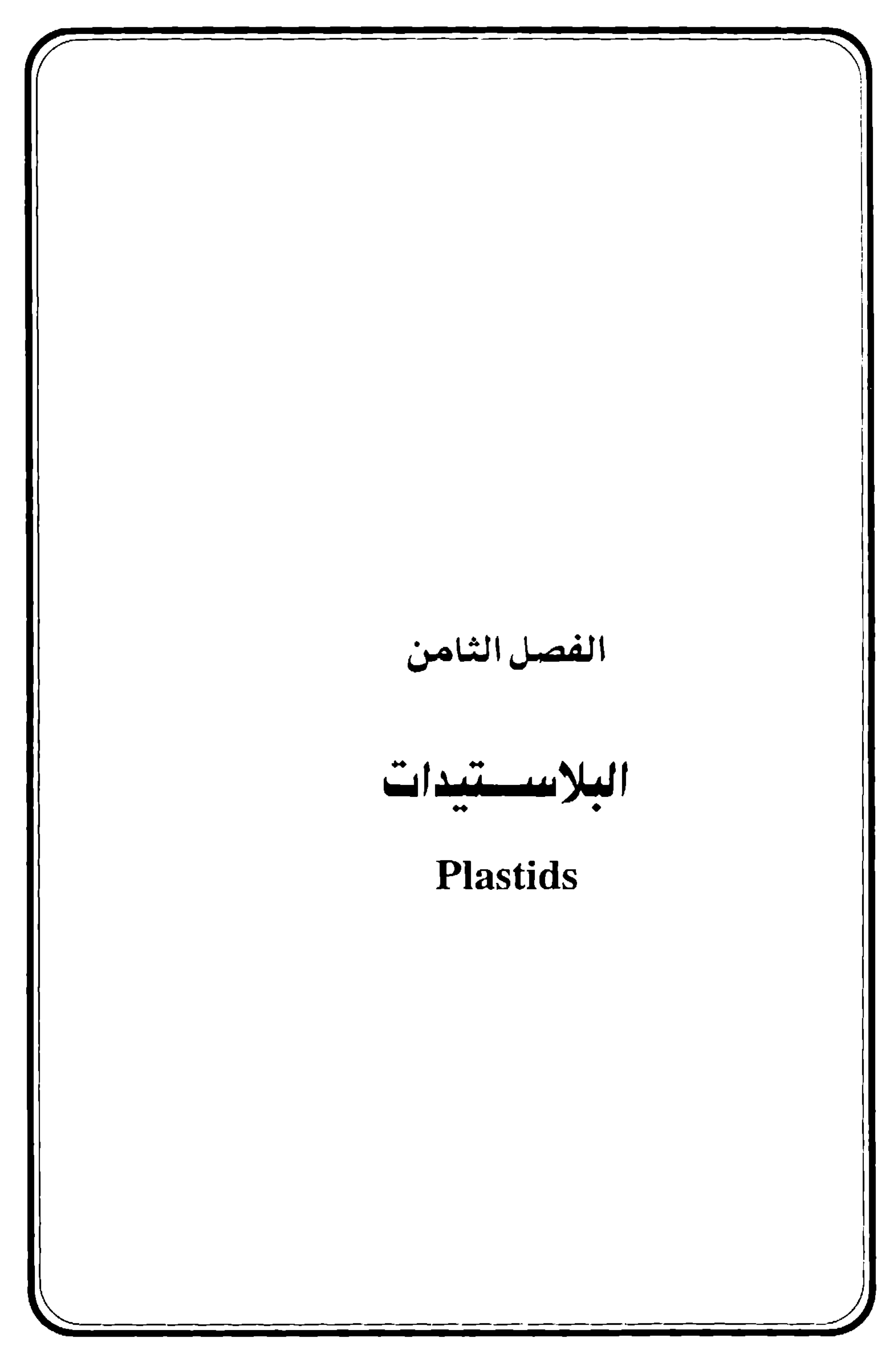
تتضاعف المايتوكوندريا بالانشطار الثنائي Binary fission حيث تتوزع مادتها الوراثية بعد التضاعف على نصفي العضية يليه تخصر الغشاء الخارجي والداخلي نحو الداخل حتى ينفصل نصفي المايتوكوندريا بحاجز مزدوج ثم ينفصلا ليكونا

زوج من المايتوكوندريا الصغيرة . ولا تلبث هذه أن تكبر بالحجم لتصل الى حجمها الطبيعي . ويشابه مايحصل في تكاثر المايتوكوندريا مع ما يحصل في تكاثر البكتيريا وبعض الاوليات .

تلتحم المايتوكوندريا في بعض الاحيان مع أخرى لتكوين عضية كبيرة الحجم ولا يعرف تماماً السبب الذي يدفعها الى ذلك ولكنه يعتقد بأن لظروف الخلية الغذائية أو الفزيائية دوراً في ذلك .

منشأ المايتوكوندريا :

تشترك المايتوكوندريا في العديد من خصائصها الشكلية والكيميائية مع الاحياء بدائية النواة . فكلاهما لا تحتويان على نواة متميزة وتتكاثران بالانشطار الثنائي ولا ترتبط مادتهما الوراثية بالهستونات . هذا اضافة لصفات مشتركة أخرى . وهذا مايدفع بالاعتقاد بأن المايتوكوندريا هي في واقع الحال كائنات حية بدائية النواة تطفلت على الخلايا بصورة أجبارية وتكيفت عبر الاف السنين لتصبح جزءاً من الخلايا تفيدها في أطلاق الطاقة مقابل حصولها على أحتياجاتها الغذائية وغيرها . وتعتبر قدرتها الذاتية على الانقسام المستقل أهم الادلة على هذا الاعتقاد . يعتقد البعض بأن المايتوكوندريا نشأة من فجوات غشائية ملتحمة . يفترض هذا الاعتقاد بدخول فجوة غشائية كبيرة الحجم محملة بقليل من السايتوبلازم وبعض محتوياته من الريبوسومات والـ DNA الى داخل فجوة غشائية أخرى أصغر حجماً بحيث يؤدي ذلك الى أنثناء جدار الفجوة الداخلية بسبب حجمه الكبير في أماكن مختلفة مكوناً الاعراف الموجودة في الغشاء الداخلي للمايتوكوندريا . كما يفترض الاعتقاد بأن الريبوسومات وجزء الـ DNA ساهمت في بناء الانزيمات اللازمة لعمل هذه العضية . ومع وجود المنطق في مثل هذا الاعتقاد الا انه لا توجد أدلة علمية على الاطلاق لاثبات ذلك .



الفصل الثامن

البلاســتيدات

Plastids

مقـــــدمة :

البـلاستـيـدات هي أوضح الاجـزاء الخلوية النبـاتيـة المفحـوصـة تحت المجـهر . كتشفت البلاستيدات عام 1883 وأطلق عليها شيمبر Schimper المصطلح المعروفة به الى الان . توجـد البـلاسـتيدات في جميع النباتات وتظهر في الخلايا باشكال واحجام والوان مختلفة .

فالبـلاستيدات يمكن ان تكون ذات شكل كروي Spheroid أو بيضوي Ovoid او صفيحية Discoid او صولجانية Clup - Shaped ولكن شكلها ثابت في خلايا النسيج الواحد . يبلغ حجم البلاستيدات من 4-6 مايكرومتر وهو ثابت في الخلية الواحدة .

فالخلايا النباتية التي تعود للنباتات متعددة المجموعة الكروموسومية Polyploid ذات بلاسـتيـدات كـبيـرة الحجم مـقـارنة مع حـجـمـهـا في خـلايا النباتات ثنائيـة المجـمـوعـةDiploid . كـما ان حجم البلاستيدات في النباتات الظلية اكبر مما في خلايا النباتات المعرضة للشمس . في النباتات الشمسية المعيشة يكون حجم البلاستيدات في الاجزاء المعرضة للضوء اكبر من بلاستيدات خلايا النبات نفسه غير المعرضة للضوء او قليلة الاضاءة .

عدد البلاستيدات في الخلية يتراوح ما بين بلاستيدة واحدة كبيرة الحجم كما هو الحال في الكلاميدوموناس الى 20 - 40 في خلايا النباتات الراقية . ويعتبر عدد البـلاستيدات في خلايا النبات ثابتاً نوعماً في النوع الواحد ولكن عددها عرضة للزيادة والنقصان اعتماداً على انقسامها او تحطمها تبعاً لحاجة وظروف الخلايا .

تتجمع البلاستيدات غالباً حول النواة او بجوار الجدار الخلوي ولكنها قد تتوزع في السايتوبلازم بصورة متجانسة . يتغير موقع البلاستيدات في الخلايا بسبب حركة السايتوبلازم والحركة الاميبية النسبة للبلاستيدات ويزداد عددها في الاجزاء المعرضة للضوء نتيجة للحركة مقارنة مع توزيعها في حالة الظلام .

تنشأ البلاستيدات كبلورات شعرية Crystal Lattic مزدوجة الغلاف صغيرة

الحـجم لا تلبث ان تكبـر في الحـجم مع وجـود الضـوء وتدعى بعـد ذلك بالبلاستيدات الاولية Proplastids . ويبدأ الغشاء الداخلي للبلاستيدات الاولية بالامتداد نحو الفراغ الداخلي من جهات مختلفة مترافقاً مع زيادة في الحجم . تنتظم الامتدادات الداخلية وتبدأ بتكوين اجسام حويصلية داخلية تترتب على هيئة مجاميع ترتبط مع بعض مكونة البذيرات الاولية .

تنتظم الاجسام الحويصلية وتبدأ بالتسطح متحولة الى صفائح قرصية الشكل وتبدأ البلاستيدات عندها بأظهار النضج الكامل لها . في النباتات المعرضة لاضاءة ضعيفة تتجمع الحويصلات الغشائية على هيئة بلورية مركزية مرتبطة مع شبكة أنبوبية لا تلبث هذه أن تترتب على هيئة تجمعات قرصية من البذيرات بعد تعريض النبات للضوء القوي لفترة من الزمن .

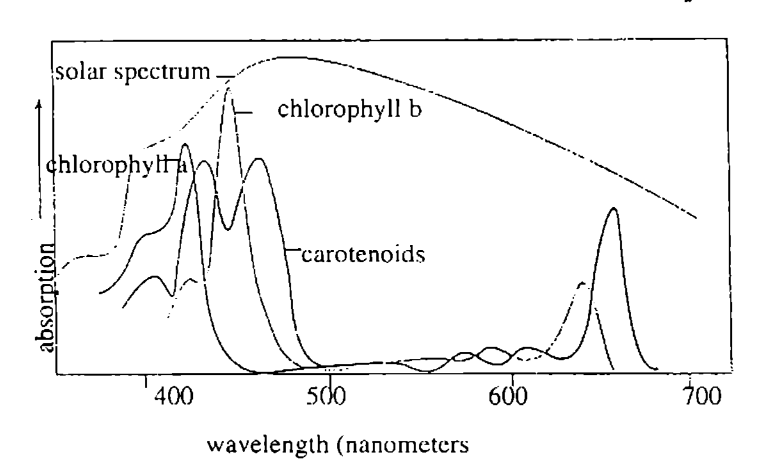
أنواع البلاستيدات واصباغها :

هناك نوعين من البلاستيدات في الخلايا النباتية هما البلاستيدات الملونة Chromoplasts وهي البلاستيدات التي تحتوي على أصباغ وتقوم بخزن مواد غذائية مختلفة والبلاستيدات غير الملونة أو البيضاء Leukoplasts . يمكن للبلاستيدات غير الملونة التحول الى بلاستيدات ملونة تبعاً لحاجة النبات ويلاحظ مثل هذا التحول واضحاً في ثمار الطماطم حيث تتحول البلاستيدات عديمة اللون اولاً الى بلاستيدات خضراء اللون ثم حمراء اللون عند نضج هذه الثمار .

تنتشر البلاستيدات عديمة اللون في خلايا الاجنة والخلايا الجرثومية النباتية اضافة للاجزاء النباتية غير المعرضة للضوء . تسمى البلاستيدات غير الملونة تبعاً لنوع خزينها من المواد . فالبلاستيدات المخزنة للنشأ تدعى Amyloplast والمخزنة للدهون Elaioplasts او Oleosomes والمخزنة للبروتين Proteinplasts . يمكن الكشف عن هذه البلاستيدات بواسطة الطرق الهستوكيميائية مثل معاملة الخلايا النباتية باليود للكشف عن البلاستيدات النشوية التي تصبح زرقاء اللون . اما البلاستيدات الملونة فهي خضراء اللون

Chloroplasts او ملونة بالوان اخرى Chromoplasts . تعود الالوان في البلاستيدات الملونة الى وجود صبغات Pigments ذات اهمية في عملية البناء الضوئي Photosynthesis .

تعتبر صبغة الكلوروفيل Chlorophyll الاكثر شيوعاً واهمية من الانواع الاخرى من الصبغات لما لها من دور مهم في التمثيل الضوئي واطلاق الاوكسجين الضروري للطاقة في جميع الانظمة الحياتية . وفي الحقيقة تعتمد الحياة على هذه الصبغة ويعتقد بان كل ذرة اوكسجين نستخدمها في التنفس وكل ذرة كاربون في اجسامنا لا بد وان مرت بوقت ما خلال هذه الصبغة . تتمركز هذه الصبغة في خلايا الاجزاء الخضراء النباتية وفي الطحالب وبعض البكتيريا وهي موجودة على هيئة اربعة انواع من الكلوروفيل هي كلوروفيل A و B و C و D وتختلف هذه في امتصاصها للضوء باطوال موجية مختلفة (شكل 8 - 1) . تنتشر صبغات الكلوروفيل A و B في بلاستيدات خلايا النباتات الراقية والطحالب بينما تنتشر الانواع A و C و D في البكتيريا الخضراء - المزرقة Cyanobacteria .



شكل 8 - 1 : الاطوال الموجية للضوء الممتص من قبل صبغات بلاستيدية مختلفة .

تحتوي بلاستيدات الخلايا الخضراء النباتية على كلوروفيل A و B بكمية كبيرة ويمثل النوع A اكثر من ثلاثة ارباع الكلوروفيل ويكون اخضر مزرقاً من حيث اللون مقارنة مع اخضر مصفر في كلوروفيل B . يمثل الكلوروفيل A بالصيغة الكيماوية $C_{55} H_{72} O_5 N_4 Mg$ بينما يمثل الكلوروفيل B بالصيغة الكيميائية $C_{55} H_7 O_6 N_4 Mg$.

يتألف الكلوروفيل من جزيئات تحتوي على راس محب للماء Hydrophilic مؤلف من أربعة حلقات بايرول Pyrrolc rings مرتبطة مع بعضها عن طريق ذرة مغنيسيوم Mg مركزية مكونة مركب بروفرين Prophrin (شكل 8 - 2) . وهذا التركيب يماثل ما هو موجود في الهيموغلوبين والسايتوكرومات باستثناء وجود ذرة المغنيسيوم في الكلوروفيل .

يرتبط مركب البروفرين عن طريق احدى حلقاته مع سلسلة فايتول غير محبة للماء Hydrophobic phytol Chain ويختلف كلوروفيل A عن B في هذا التركيب بوجود مجموعة مثيل CH_3 – في كلوروفيل A ومجموعة الدهايد CHO – في كلوروفيل B . ولا يرتبط الكلوروفيل مع البروتين أثناء وجوده في البلاستيدات . تحتوي البلاستيدات الخضراء النباتية اضافة للكلوروفيلات على صبغات اخرى تعود لاشباه الكاروتينات والزانثو فيلات ولاتظهر هذه الصبغات بسبب طغيان الكلوروفيلات ولكن يمكن ملاحظتها في فترة الخريف عند ذبول الاوراق .

يتم بناء الكلوروفيل بوجود الضوء وباستخدام مركبات عضوية وذلك استناداً الى شفرات وراثية معينة . فالكاربون والهيدروجين والاوكسجين في جزيئات الكلوروفيل مستمدة من السكريات وتعمل البادرات على بناء اول كلوروفيل لها من السكريات المخزونة فيها لا تلبث هذه أن تستخدم السكريات الناتجة عن التمثيل الضوئي في البناء بعد ذلك اضافة لوجود ايونات النتروجين والمغنيسيوم والحديد . فاصفرار النباتات المعروف بالشحوب الكلوروفيلي Chlorotic هو نتيجة لعدم بناء الكلوروفيل بسبب نقص المغنيسيوم والحديد والنتروجين . كما ان عدم تعرض

النبات للضوء يؤدي الى اصفراره نتوقفه عن بناء الكلوروفيل بسبب توقفه عن بناء السكريات اللازمة لذلك وهو ما يسمى الشحوب الظلامي Etiolation .

اضافة للكلوروفيلات تحتوي الخلايا النباتية على صبغات اخرى مثل اشباه الكاروتينات Carotenoids والكاروتينات Carotens والزانثوفيلات Xanthophylls والأنثوسيانين Anthocyanin .

تتميز هذه الصبغات بانها مؤلفة من سلسلة هيدروكربونية قصيرة غير مشبعة في الكاروتينات واشباهها مما يجعلها كارهة للماء وتحتوي على العديد من مجاميع الهيدروكسيل في الزانثوفيلات مما يجعلها محبة للماء . توجد هذه الصبغات أما مترافقة مع الكلوروفيلات او ضمن بلاستيدات خاصة بها او ذائبة في العصير الخلوي .

شكل 8 - 2 : التركيب الكيميائي للكلوروفيل A وكاروتين بيتا .

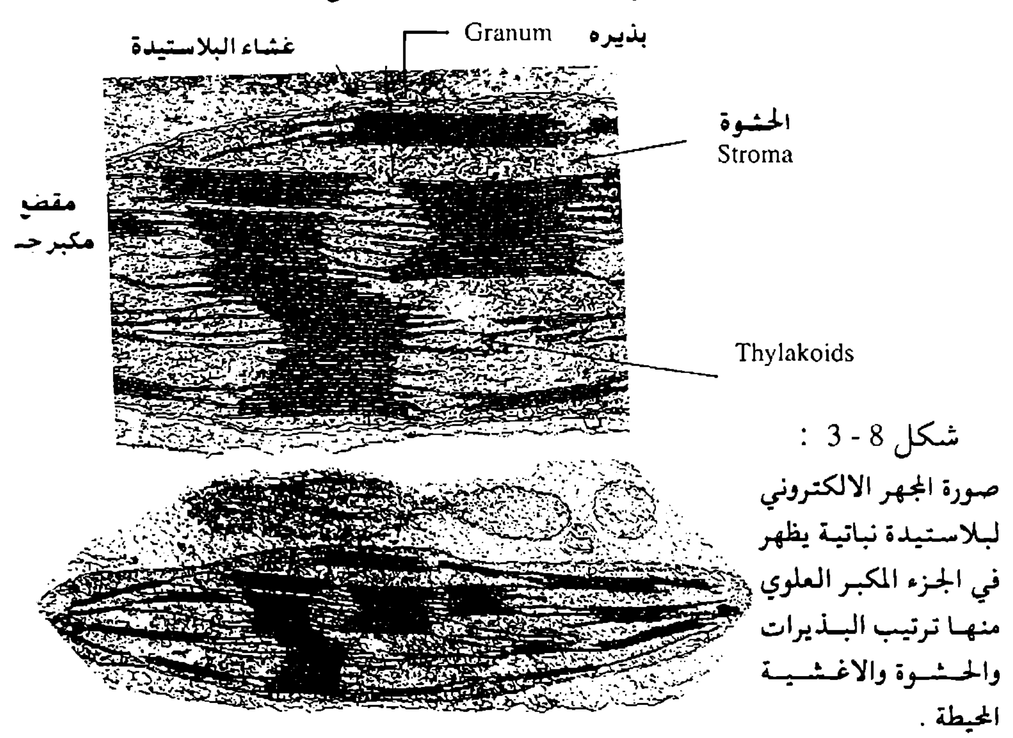
تحتوي بعض البلاستيدات غير الكلوروفيلية على صبغات كاروتينية مختلفة الالوان موجودة في الاوراق التويجية والازهار والاثمار والاجزاء الملونة الاخرى . واشهر هذه البلاستيدات هي البلاستيدات الحمراء Lycopene في الطماطم

والبلاستيدات البرتقالية في الجزر وغيرها . في الطحالب تحتوي البلاستيدات على صبغات خاصة مثل الصبغة الحمراء Phycoerythrin والزرقاء Phycocyanin .

اصباغ الكاروتينات واشباهها والزانثوفيلات توجد في البلاستيدات الخضراء ونادراً ما توجد في السايتوبلازم لكنها لا توجد على الاطلاق في العصير الخلوي على عكس صبغات الانثوسيانين وهي مركبات عضوية Glycosides تتحلل جزئيا لانتاج سكر الجلوكوز وتوجد خارج البلاستيدات مذابة في العصير الخلوي . تعزى الالوان البنفسجية والحمراء والزرقاء للبتلات الزهرية والعنب واللهانة والبنجر لوجود هذه الصبغات (الانثوسيانين) .

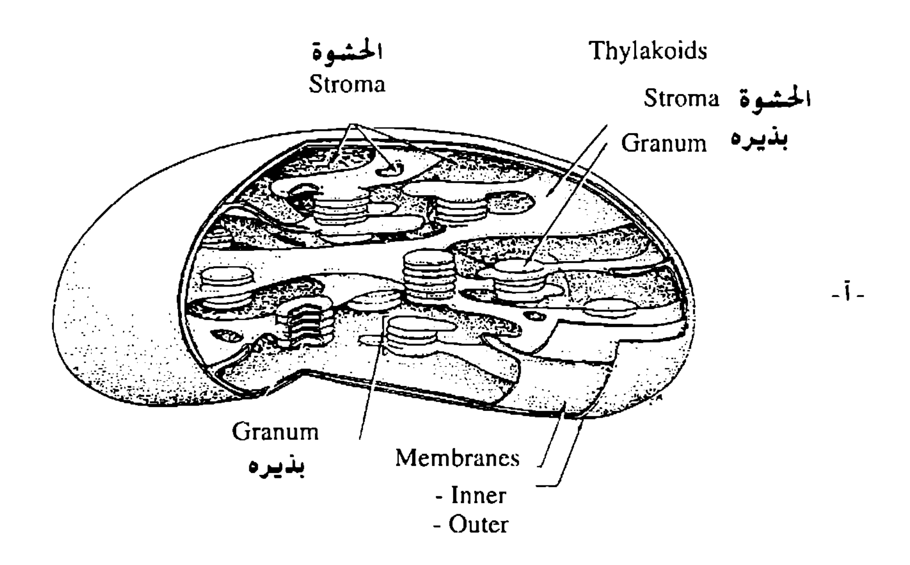
التركيب الدقيق للبلاستيدات :

أظهر فحص المجهر الالكتروني لنماذج البلاستيدات المحضرة بطريقة Freeze - Fracturing بان البلاستيدة مؤلفة من ثلاثة اجزاء هي الغلاف Envelope والحشوة Stroma or Matrix والثيلاكويدات Thylakoids (شكل 8 - 3) .

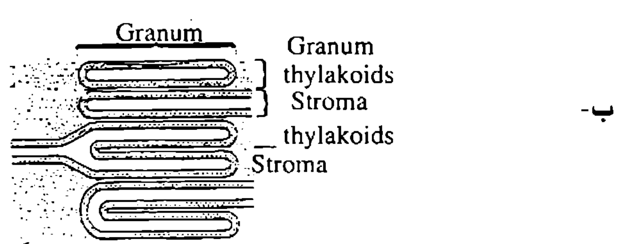


شكل 8 - 3 : صورة المجهر الالكتروني لبلاستيدة نباتية يظهر في الجزء المكبر العلوي منها ترتيب البذيرات والحشوة والاغشية المحيطة .

يتكون غلاف البلاستيدة من غشائيين مزدوجين خارجي وداخلي . الغشاء المزدوج الخارجي يظهر أملساً ومستمراً دون انثناءات تحيط بالبلاستيدة بشكل كامل بينما ينثني الغشاء المزدوج الداخلي في مواقع مختلفة مؤلفاً شبكة انبوبية وصفائح ويدعى ايضاً بالثيلاكويد (شكل 8 - 4) .



- أ -



- ب -

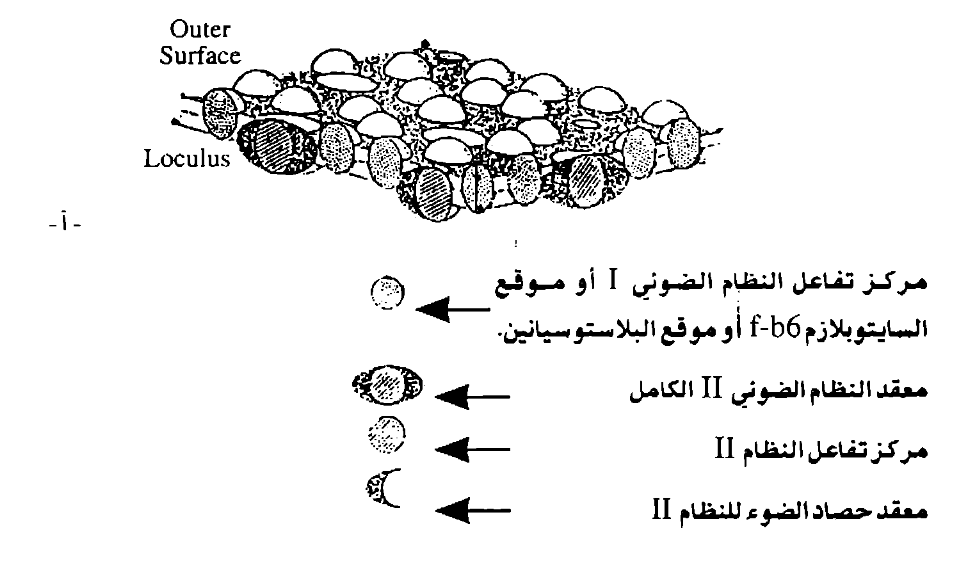
شكل 8 - 4 : مخطط لتركيب البلاستيدة موضحاً فيه دور الغشاء الداخلي للبلاستيدة في ظهور بذيرات البلاستيدات بينما يوضح المخطط (ب) تصور لترتيب الغشاء الداخلي لبناء البذيرات .

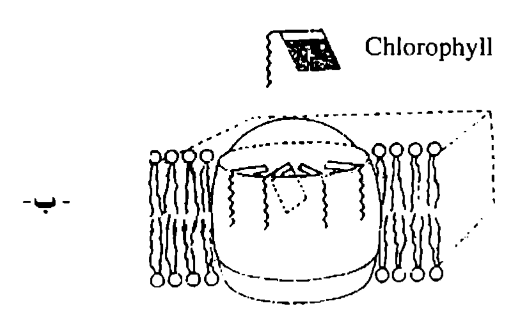
بينت نتائج التحاليل البايوكيمائية والهستوكيميائية التي اجريت على هذه الاغشية بانها مؤلفة من 55% دهون تترتب على هيئة طبقتين لكل غشاء مفرد من الاغشية وتحتوي هذه الدهون على دهون تركيبية غير مشبعة مثل الدهون الجلايكولية 41% ودهون مكبرتة 4% ومفسفرة 10% . تنطمر بين طبقات الدهن اعداد من الجسيمات البروتينية تنتشر بصورة غير متجانسة . ان التركيب العام لهذه الاغشية يماثل تماماً النموذج المائع الذي افترضه سنجر ونيكلسون . كما بين التحليل الكيميائي بأن الجزيئات البروتينية الغشائية هي معقدات ذات اهمية كبيرة في التمثيل الضوئي حيث تبين انها تحتوي على 21% من صبغات الكلوروفيل و 3% من صبغات الكاروتينات واشباهها .

توجد جزيئات الكلوروفيل وغيرها من الجزيئات الصبغية ضمن الاجسام البروتينية المنتشرة بين جزيئات الدهون مولدة معقدات كلوروفيلية بروتينية (شكل 8 - 5) .

لقد تم عزل عدداً من هذه المعقدات مثل معقدات النظم الضوئية Phytosystems complexes I ، II التي تمثل مراكز التفاعل لجزيئات P700 و P680 ومعقد حصاد الضوء Light - harvesting chlorophyll - Protein com-plex LHCP الذي يعمل على نقل طاقة الضوء الى الانظمة الضوئية I و II .

كما تم عزل معقدات اخرى يقابل احداها السايتوكروم f - ba ويتألف من دهون مفسفرة وكاروتين وذرة معدنية غير حديدية اضافة لبروتين معقد آخر له علاقة بانزيم اطلاق الطاقة ATpase . هذا اضافة لمعقدات بروتينية اخرى يجري العمل على تقييم وظائفها .





شكل 8 - 5 : نموذج لتركيب غشاء الثيلاكويد موضحاً فيه مواقع المعقدات الكلوروفيلية - البروتينية وغيرها من الانظمة الضوئية .

أ - نموذج الغشاء .

ب - معقد كلوروفيلي - بروتيني يحيط البروتين فيه بجزيئات الكلوروفيل .

يحتوي فراغ البلاستيدة على مادة شبه هلامية تحيط بمكونات الثيلاكويد تدعى بالحشوة او الستروما تتألف من البروتينات التي تمثل حوالي 50% من بروتينات البلاستيدة ودهون وكربوهيدرات . كما تحتوي الحشوة على ريبوسومات خاصة بالبلاستيدة تتميز بصغر حجمها مقارنة بحجم ريبوسومات السايتوبلازم وكذلك DNA يمثل مادتها الوراثية ويساعدها على الانقسام والتضاعف الذاتي . ويعتقد بان الستروما او الحشوة غزيرة بالانزيمات البنائية وانزيمات الطاقة ونقل الالكترونات وغيرها .

تترتب الثيلاكويد داخل البلاستيدة على هيئة تجمعات صفائحية مترابطة . يتألف كل تجمع صفائحي من 40 - 60 صفيحة قرصية تترتب على بعضها كما تترتب الاوراق النقدية . يدعى كل تجمع من هذه التجمعات بالبذيرة Granum ويمتد من كل تجمع تركيب مسطح مجوف او انبوبي متشعب يرتبط مع التجمعات الاخرى .

تدعى التراكيب الرابطة هذه بالصفائح الحشوية Storma Lamellae ويبدو وبأن البذيرات والصفائح هي عبارة عن أنثناءات لغشاء الثيلاكويد (شكل 8 - 4) .

يتميز الثيلاكويد وملحقاته بغناه في المعقدات البروتينية وجميع المركبات اللازمة لعملية التمثيل الضوئي مقارنة بالغشاء الخارجي للبلاستيدة .

التمثيل أو البناء الضوئي Photosynthesis :

تمثل عملية البناء الضوئي التي تحدث في الاجزاء الخضراء من النباتات العملية الرئيسية التي تحدث في البلاستيدات الخضراء وتؤدي الى توفير السكريات للنبات وأطلاق الاوكسجين في الجو .

تلعب المعقدات الكلوروفيلية - البروتينية دوراً هاماً في هذه العملية حيث تتوفر في هذه المعقدات عدداً من الانظمة الضوئية التي تعمل على أقتناص طاقة الضوء وتدويرها لانتاج الاوكسجين والسكريات .

تعمل الانظمة الضوئية التي تنتشر في الاغشية الداخلية للبلاستيدات كسلاسل لنقل الطاقة ومراكز لأنبعاث الالكترونات والبروتونات وتعمل هذه على توفير وسائط الطاقة اللازمة لتفاعلات البناء . ويمكن تمثيل معادلة البناء الضوئي بالمعادلة التالية :

$$6CO_2 + 12H_2O + 673\ Kcal \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O2 + 6H_2O$$

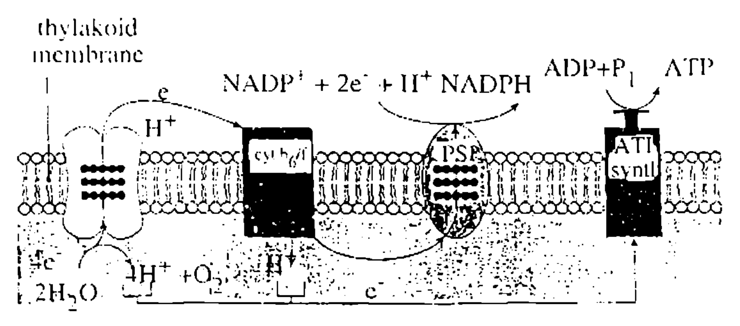
ويلاحظ من ذلك تحلل جزيئات الماء في التفاعل ثم يعاد تكوينها مرة أخرى بحيث يستهلك نصفها في أنتاج السكر واطلاق الاوكسجين .

إن عملية البناء الضوئي ليست تفاعلاً مفرداً بل سلسلة من التفاعلات المعقدة التي لا يزال بعضها يكتنفه الغموض . لكن يمكن تلخيصها في تفاعلات الضوء Light reactions التي يتم فيها أقتناص طاقة الضوء بواسطة الكلوروفيل لاطلاق الاوكسجين والبروتونات اللازمة للتفاعلات القادمة وبناءجزيئات الطاقة ATP وتفاعلات الظلام Dark reactions التي يتم فيها الاستفادة من البروتونات المنطلقة من التفاعلات الضوئية وجزيئات الطاقة وثاني أوكسيد الكاربون لأنتاج السكريات وبناء عدد من جزيئات الماء .

في تفاعلات الضوء يمكن تمييز مرحلتين من هذه التفاعلات . المرحلة الاولى تتضمن أقتناص الطاقة الضوئية عن طريق جزيئات الكلوروفيل وتضخيمها داخل الانظمة الضوئية وتحويلها الى طاقة كيميائية تخزن في جزيئات الطاقة ATP ولا يزال الغموض يحيط بألية أنتقال الطاقة داخل الانظمة الضوئية (شكل 8 - 6) .

أما المرحلة الثانية فيتم فيها تحلل جزيئات الماء بعملية تدعى بالتحلل الضوئي Photolysis يتم خلالها أستخدام الطاقة التي توفرها جزيئات الكلوروفيل لنزع بروتون (H^+) من الماء وأطلاق الاوكسجين .

أما تفاعلات الظلام فهي تفاعلات كيميائية تحصل في ستروما البلاستيدات وتزداد فعاليتها بأزدياد درجة الحرارة ولا تحتاج الضوء لبدءها .

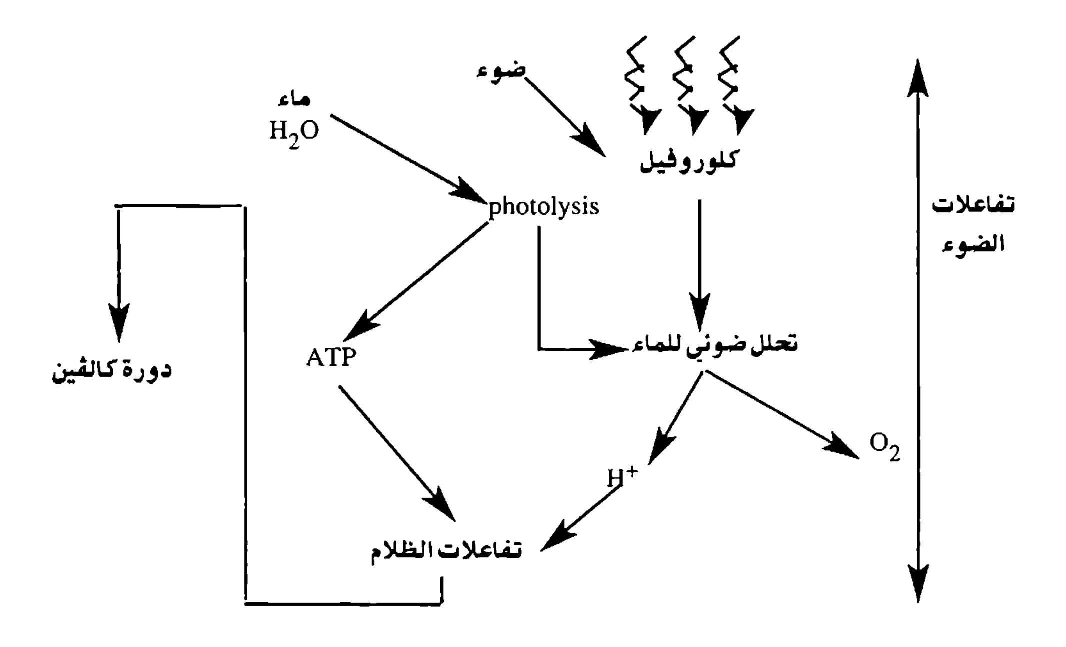


شكل 8 - 6 : تخطيط أفتراضي لتنظيم المعقدات البروتينية المسؤولة

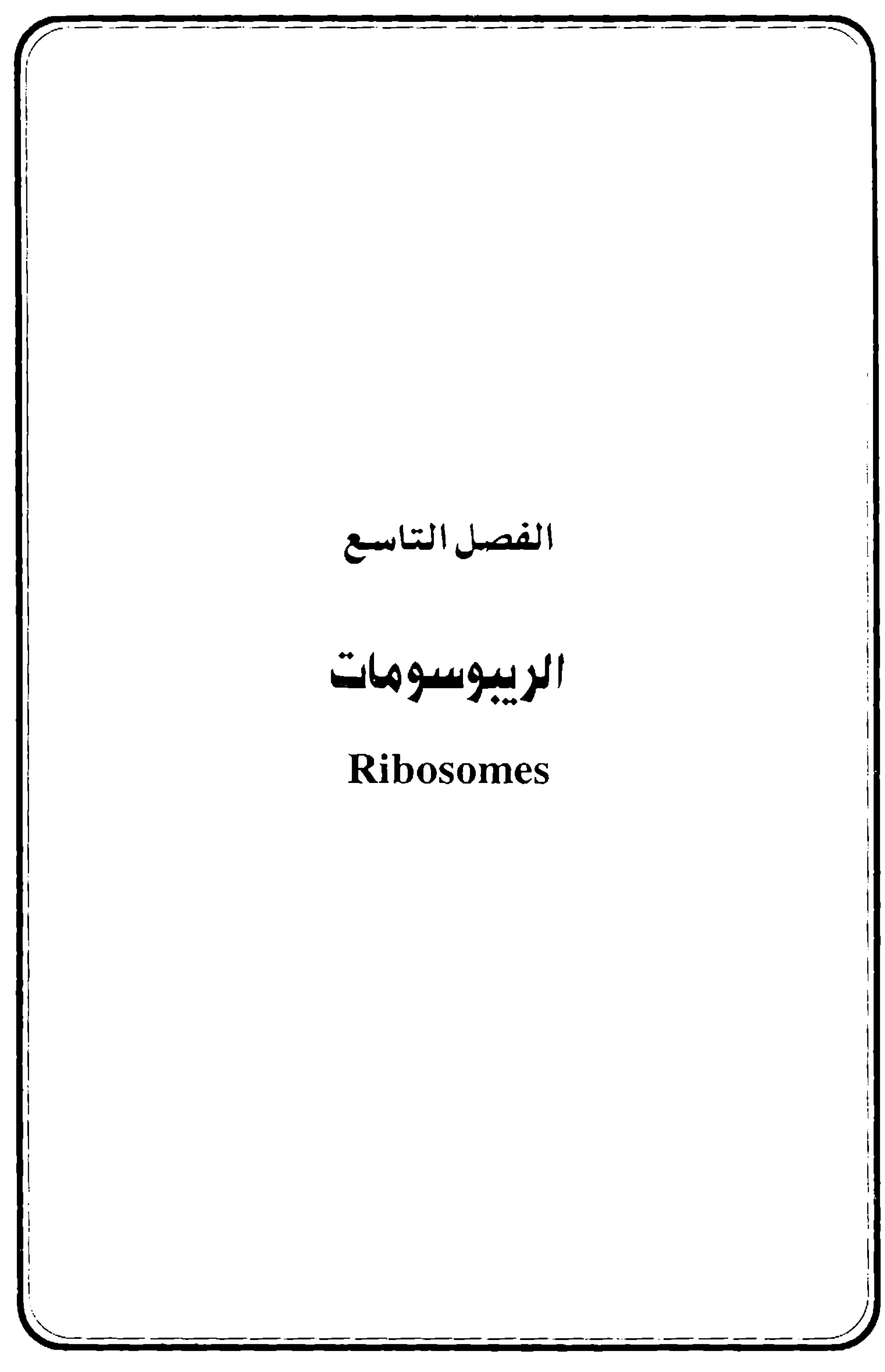
عن تفاعلات الضوء .

يتم في هذه التفاعلات أتحاد ثاني أوكسيد الكاربون والماء مع جزيئة سكر خماسي Ribulose 1 - 5 diphosphate (دورة كالڤن C_3 - Calvin cycle) لأنتاج جزيئة سكر سداسي الكاربون غير ثابت 3-Phosphoglycerate تتحول بعد أستلامها بروتون ($NADP^+ \leftarrow NADP\ H$) الى جزيئين من السكريات الثلاثية الكاربون 3-Phosphoglyceraldehyde - PGAL (تستهلك في هذا التفاعل جزيئة ATP سبق بناؤها في تفاعلات الضوء) .

تمر جزيئة PGAL بسلسلة من التفاعلات التي تؤدي في النهاية الى أنتاج سكر جلوكوز وماء وسكر رايبولوز يدخل مرة أخرى لبدء دورة كالڤن مرة اخرى(شكل 8 - 7) .



شكل 8 - 7 : تفاعلات الضوء والظلام التي تجري في البلاستيدات لانتاج الجلوكوز والاوكسجين .



الفصل التاسع

الريبوسومات

Ribosomes

الشكل والتركيب :

الريبوسومات أجسام صغيرة غير غشائية أكتشفت في بداية القرن التاسع عشر وتظهر مؤلفة من نصفي حلقات غير متساوية القطر يبلغ معدل قطرها بين 17 - 23 نانوميتر . تنتشر هذه الاجسام في سايتوبلازم جميع أنواع الخلايا أضافة لأنتشارها على السطوح الخارجية لاغشية الشبكة الاندوبلازمية الخشنة . كما أنها قد تنتظم على هيئة مسبحة Polysomes أو تجمعات وقد نجدها في البلاستيدات والمايتوكوندريا . سميت هذه الاجسام بأسماء مختلفة تبعاً لنوع الخلايا التي شوهدت فيها .

ففي الخلايا الغدية تسمى أرجستوبلازم Ergustoplasm وفي الخلايا العصبية سميت بأجسام نسل Nissl bodies وفي خلايا أخرى بالاجسام القاعدية Basophilic bodies .

لا يعرف كيف يتم بناء الريبوسومات بشكل تفصيلي الا انه من المعروف بأنها تتألف من حامض نووي ريبوزي ريبوسومي r RNA وبروتينات متنوعة تؤلف هذه تحت وحدتين Subunits ترتبطان مع بعضهما بمساعدة أيونات المغنيسيوم وتنفصلان من دون هذه الايونات .

وجد بأن لريبوسومات الخلايا حقيقية النواة معامل ترسيب يساوي 80 S وعند الانفصال تتكون تحت وحدتين من كل ريبوسوم أحداهما كبيره يساوي معامل ترسيبها 60 S تحتوي على جزيئتي أحماض نووية ريبوزية 28 S و 5 S وأخرى صغيرة معامل ترسيبها 40 S تحتوي على جزيئة حامض نووي 18 S .

أما بالنسبة لريبوسومات الخلايا بدائية النواة فأن معامل ترسيبها الكلي يبلغ 70 S بينما يبلغ معامل ترسيب تحت وحدتها الكبيرة 50 S والصغيرة 30 S .

ونظراً لغزارة مجاميع الفوسفات في تركيب الريبوسومات فأنها محبة للقاعدية وتصطبغ بسهولة بالاصباغ القاعدية كأزرق الميثلين والتولوين والهيماتوكسلين . تقوم

الريبوسومات ببناء جميع أنواع البروتينات اللازمة للخلايا أذ تمتلك نظاماً فريداً للبناء مؤلف من أعداد مختلفة من الانزيمات والجزيئات الناقلة والمساعدة . تعتمد عملية بناء البروتينات في الريبوسومات على وجود موقع خاص على السطح الداخلي لتحت وحداتها لارتباط الحامض النووي المرسال ثم ترجمة الشفرات الوراثية المحمولة عليه الى أحماض أمينية يتم ربطها بشكل متسلسل حسب ورودها في الشفرات لانتاج سلاسل عديد الببتيد . وتساهم في هذه العملية العديد من عوامل نمو سلاسل الببتيد وجزيئات من الحامض النووي الناقل وأنزيمات مختلفة .

الترجمة وبناء البروتين :

ان عملية تصنيع كل جزيئة بروتين يتم ادارتها بواسطة الحامض النووي المرسال m RNA . تتضمن هذه العملية عدد من الخطوات التي تتبع استنساخ الحامض النووي المرسال ويمكن وضع هذه الخطوات على شكل مرحلتين هما :

١ . مرحلة انتقال المعلومات Information - transfer وفيها يتم تصميم تتابع الاحماض الامينية اعتماداً على تتابع شفراتها في الحامض النووي المرسال .

٢ . مرحلة العمليات الكيميائية حيث يتم من خلالها ربط الاحماض الامينية مع بعضها . وتدعى كلا المرحلتين بالترجمة (Translation) . يتضمن نظام الترجمة اربعة مكونات :

أ – الريبوسومات : وتمثل منضدة العمل التي يتم فيها تصنيع البروتينات . تنتشر الريبوسومات في سايتوبلازم الخلايا بدائية النواة فيما تتركز بكثافة على سطوح اغشية الشبكة الاندوبلازمية في حقيقيات النوى . تحتوي الريبوسومات على الانزيمات الضرورية لتكوين الروابط الببتيدية بين الاحماض الامينية . وتوفر المكان المناسب لارتباط الحامض النووي المرسال .

ب – الحامض النووي الناقل tRNA : ان الاحماض الامينية ليست مرتبطة مع شريط الحامض النووي المرسال بل هناك شفرات معينة ضمن الحامض النووي المرسال يتم التعرف عليها ليبدأ بناء سلسلة عديدة الببتيد . ان عملية التعرف على

هذه الشفرات يتم بواسطة مجموعة من الجزيئات التي تدعى بالحامض النووي الناقل .

تتمكن هذه الجزيئات من قراءة شفرات الحامض النووي المرسال باستخدام مضاد الشفرة الذي تحمله . تتكامل مضادات الشفرات الوراثية بحيث يقابل كل شفرة وراثية معينة مضاد للشفرة مكمل له .

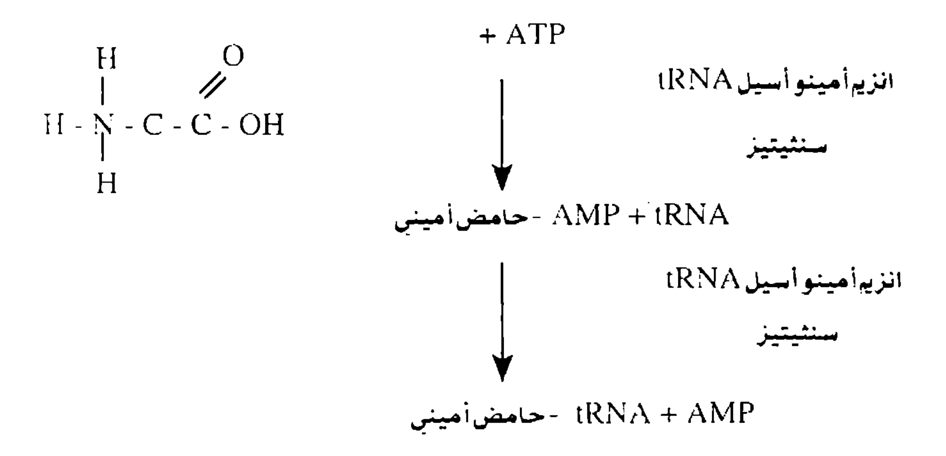
جـ انزيمات تصنيع مركب الحامض النووي الناقل - امينواسيل (Aminoacyl - tRNA Synthetases) : وهي مجموعة من الانزيمات المسؤولة عن ارتباط حامض اميني مع جزيئة حامض نووي ناقل مناسب . يرتبط الحامض الاميني مع جزيئة الحامض النووي الناقل الخاصة به برابطة قوية تنشأ من ارتباط مجموعة الكربوكسيل (-COOH) في الحامض الاميني مع مجموعة الهيدروكسيل (-OH) في الطرف الثالث من جزيئة الحامض النووي الناقل لانتاج مركب الامينواسيل - الحامض النووي الناقل . يتكون هذا المركب بخطوتين الاولى بتنشيط الحامض الاميني بواسطة الطاقة العالية في الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) والثانية بارتباط الحامض الاميني المنشط بجزيئة الحامض النووي الناقل المناسب واطلاق المركب الوسيط الادنين احادي الفوسفات (AMP) . تتم كلتا الخطوتين بوجود انزيم تصنيع مركب الحامض النووي الناقل - امينواسيل (شكل 9 - 1) .

ان المعقد الكيميائي المتكون من الحامض النووي الناقل والامينواسيل يعمل كوسيط لبناء سلسلة عديد الببتيد حيث يتمكن كل جزيء من هذا المعقد الكيميائي من تمييز الشفرة الصحيحة في الحامض النووي المرسال ليصنع الحامض الاميني في الوضع الصحيح .

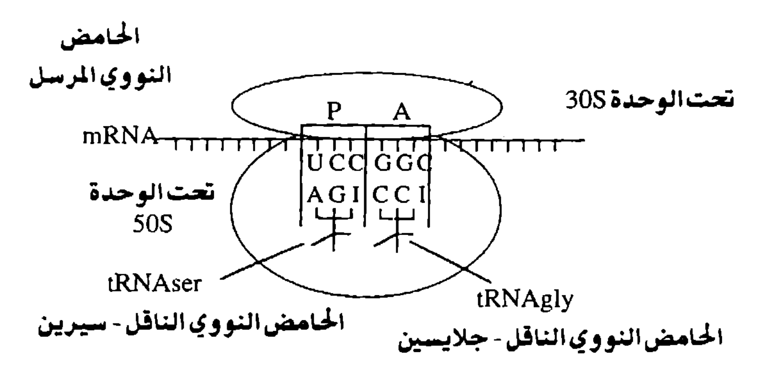
د - تأسيس واطالة سلسلة عديد الببتيد : يحتوي كل ريبوسوم على موقعين الاول هو الموقع الببتيدي (P) (Piptidyl site) الذي ترتبط به سلسلة عديد الببتيد النامية والثاني هو موقع الحامض الاميني المنشط (A) الذي ترتبط به جزيئة الحامض النووي الناقل - امينواسيل الحاملة للحامض الاميني (شكل 9 - 2) .

ترتبط جزيئات الحامض النووي - امينواسيل بالموقع A اعتماداً على مضاد الشفرة التي يحملها والشفرة الوراثية المحمولة على الحامض النووي المرسال . وعلى ذلك فإن جزيئات الحامض النووي الناقل - امينواسيل تتغير بتحرك الشفرات الوراثية للحامض النووي المرسال . وهكذا يتولى ارتباط جزيئات الحامض النووي الناقل امينواسيل مع كل تغيير في الشفرة الوراثية في الموقع A .

وتشابه حركة شفرات الحامض النووي المرسال وجزيئات الحامض النووي الناقل - امينواسيل حركة شريط الطابعة اليدوية فيما تشبه اضافة الحامض النووي الناقل - امينواسيل طبع الحروف لتنتهي العملية بكلمة مفهومة ومرتبطة مع بقية الكلمات لانتاج سطر كتابي يقابل سلسلة عديد الببتيد النامية . يبدأ بناء البروتين بواسطة بادىء خاص من جزيئة الحامض النووي الناقل والذي يرمز له بـ -Meth iony l - tRNAF) t RNA fmet) كما ترتبط جزيئة الميثونين مع مجموعة اخرى هي مجموعة الفورميل .



شكل 9 - 1 : دور انزيم الامينواسيل tRNA في تصنيع معقد الحامض الاميني - tRNA .



شكل 9 - 2 : مناطق ارتباط مركب الحامض النووي الناقل – امينوأسيل على الريبوسوم ويظهر بأن الموضع A مشغولاً بمركب الحامض النووي الناقل – جلايسين فيما يكون الموضع P مشغولاً بمركب الحامض النووي الناقل – سيرين حيث يرتبط الجلايسين والسيرين . بعدها يتحرك مركب الحامض الناقل – جلايسين ليحل في الموضع P ليرتبط مركب جديد من الحامض الناقل – امينواسيل في الموضع A بعد تحرك جزيئة الحامض النووي المرسال .

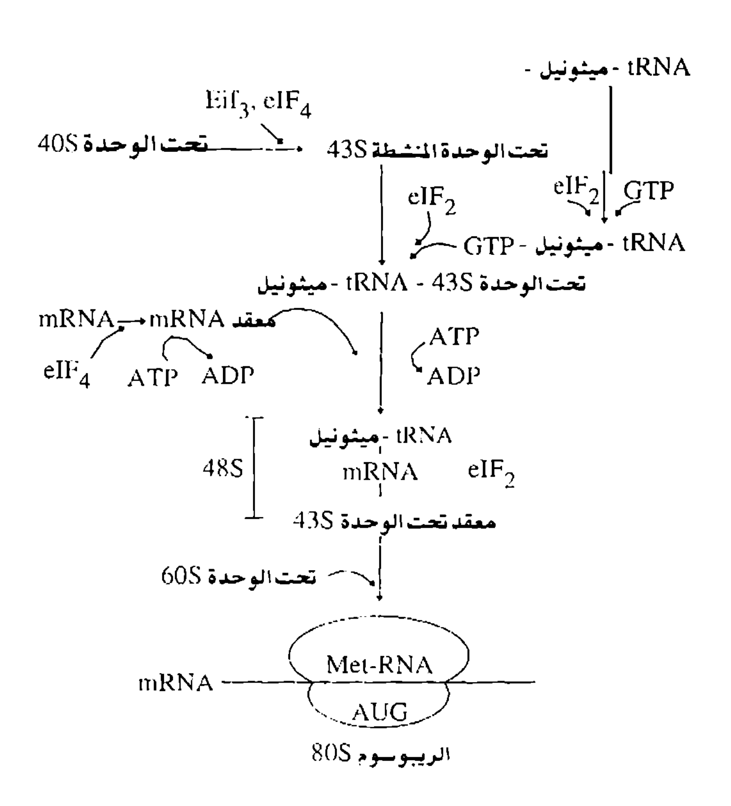
ان ذلك يؤدي الى ان جميع سلاسل عديد الببتيد الناتجة تبدأ بالحامض الاميني ميثونين (عدا البروتينات الوظيفية) .

ينفصل هذا بعد الانتهاء من سلسلة عديد الببتيد . وبالاضافة للحامض النووي الناقل – ميثونين فانه وجد بان هناك طرازاً ثانياً منه في سايتوبلازم حقيقيات النوى يكون خالياً من مجموعة الفورميل ويرمز له (RNAi الناقل – ميثونيل) . يتفاعل الطراز الثاني الخالي من مجموعة الفورميل فقط مع عوامل بناء البروتين (IF3 و IF2 و IF1) في حين يتفاعل الطراز الاول مع عوامل الاطالة EF - TU و EF - TS (Elongation Factors Ts , Tu) والانتهاء في كل من الاحياء بدائية النوى وحقيقيات النوى . يرتبط معقد جزيئة الحامض النووي الناقل – ميثونيل الخاص بتحت الوحدة الصغيرة مع الحامض النووي المرسال عن طريق الارتباط مع القواعد الثلاث الاولى التي تلي منطقة الدال في الحامض النووي المرسال . تدعى هذه القواعد الثلاث بشفرة الابتداء وهي اما ان تكون AUG أو GUG . تحتاج هذه العملية كافة عوامل البناء السابق ذكرها بالاضافة للجوانين

ثلاثي الفوسفات (GTP) الذي يتم نزع الماء منه ليتحول الى جوانين ثنائي الفوسفات GDP . ينتقل معقد تحت الوحدة الصغيرة - الحامض النووي الناقل - ميثونيل لينضم الى تحت الوحدة الكبيرة ليصبح جزيء الحامض النووي الناقل - ميثونيل مرتبط بالمواقع (P) على الريبوسوم . ان وجود شفرة الابتداء مع مضاد الشفرة في موقع P يؤدي الى ترك الموقع A فارغاً حيث تتعرف عليه جزيئة الحامض النووي الناقل - امينواسيل لترتبط به . تحتاج عملية الارتباط هذه الى نزع الماء من الجوانين ثلاثي الفوسفات بالاضافة لوجود عوامل الاستطالة EF - Ts و EF - TU (EF1 alpha و EFIBeta - Gamma في الاحياء حقيقية النوى) . وفي الخطوة التالية يتم ربط المجموعة الكاربوكسيلية للحامض الاميني المحول على جزيئة الحامض النووي الناقل - امينواسيل المرتبطة في الموقع P مع مجموعة الامين للحامض الاميني المحمول على جزيئة الحامض النووي الناقل - امينواسيل في الموقع A لتكوين آصرة ببتيدية بين الحامضين .

يلعب الانزيم (Piptidyl transferase) الموجودة على تحت الوحدة الكبيرة دوراً في نشوء هذه الروابط . تتضمن الخطوة اللاحقة انتقال جزيئة الحامض النووي الناقل - امينواسيل المرتبطة مع سلسلة عديد الببتيد من موقع A للموقع P نتيجة لتحرك الحامض النووي المرسال لثلاث قواعد وبالتالي كشف الشفرة الوراثية التالية التي تأخذ مكانها في الموقع A . تتعرف على هذه الشفرة جزيئة جديدة من جزيئات الحامض النووي الناقل - امينواسيل لتربطها معها . تحتاج هذه العملية الى نزع الماء من جزيئة الجوانين ثلاثي الفوسفات وكذلك عامل الاستطالة EF – EF) 2 - في الاحياء حقيقة النوى) تتكرر بعدها الخطوات السابقة مع كل ارتباط جديد لجزيئة جديدة من جزيئات الحامض النووي الناقل - امينواسيل حتى اكتمال جميع الشفرات الوراثية للحامض النووي المرسال . يتم بعدها ايقاف عملية البناء عن طريق ارتباط عوامل محررة (Releasing Factors) يرمز لها بـ RF1 - RF2 (RF في الاحياء حقيقية النوى) تنفصل بعدها الوحدة المؤلفة للريبوسوم لتحرر سلسلة عديد الببتيد . ومن الجدير بالذكر ان ترجمة جزيئات الحامض النووي المرسال قد

تتم بواسطة العديد من الريبوسومات (يطلق على مجموعة الريبوسومات المرتبطة مع جزيئة الحامض النووي المرسال بالبوليسومات) في نفس الوقت حيث يأخذ كل ريبوسوم حيزاً معلوماً من الحامض النووي المرسال ليباشر عملية الترجمة . كما ان عملية الترجمة تقف عند ما تصل الموضع A حيث يتم نزع مجموعة الفورميل من على مجموعة الامين في حامض الميثونين عن طريق انزيم الفورميل (deformylase) (شكل 9 - 3) .



شكل 9 - 3 : عوامل تأسيس بناء البروتين في الأحياء حقيقة النوى ومواقع عملها .

الفصل العاشــر

الشبكة الاندوبلازمية

Endoplasmic Reticulum

أشكال وأنواع الشبكات الاندوبلازمية :

تحتوي جميع الخلايا الحية بأستثناء بدائية النوى على شبكة أندوبلازمية . يختلف حجم هذه الشبكة تبعاً لنوع الخلايا . فالخلايا الكبدية والبنكرياسية والصاريه وأنواع أخرى ذات شبكة أندوبلازمية كبيرة تشغل معظم السايتوبلازم بينما تشكل تجمعات بالقرب من الالياف العضلية في خلايا العضلات . لا يمكن مشاهدة الشبكة الاندوبلازمية في المجهر الضوئي حتى في حالة صباغة الخلايا لذلك فأن المجهر الالكتروني هو الوسيلة الوحيدة التي تستخدم في دراستها .

تتألف الشبكة الاندوبلازمية من غشاء مفرد كثير الانطواءات مؤديا الى تكوين طبقات مزدوجة مفلطحة تترتب على هيئة صفوف مرتبطة مع بعضها . تترك كل طبقة من هذه الطبقات فراغاً داخلياً يدعى بفراغ الشبكة E.R.Lumen أضافة لفراغات خارجية تقع بين طبقات الشبكة الاندوبلازمية تدعى هذه بالسايتوسول Cytosol .

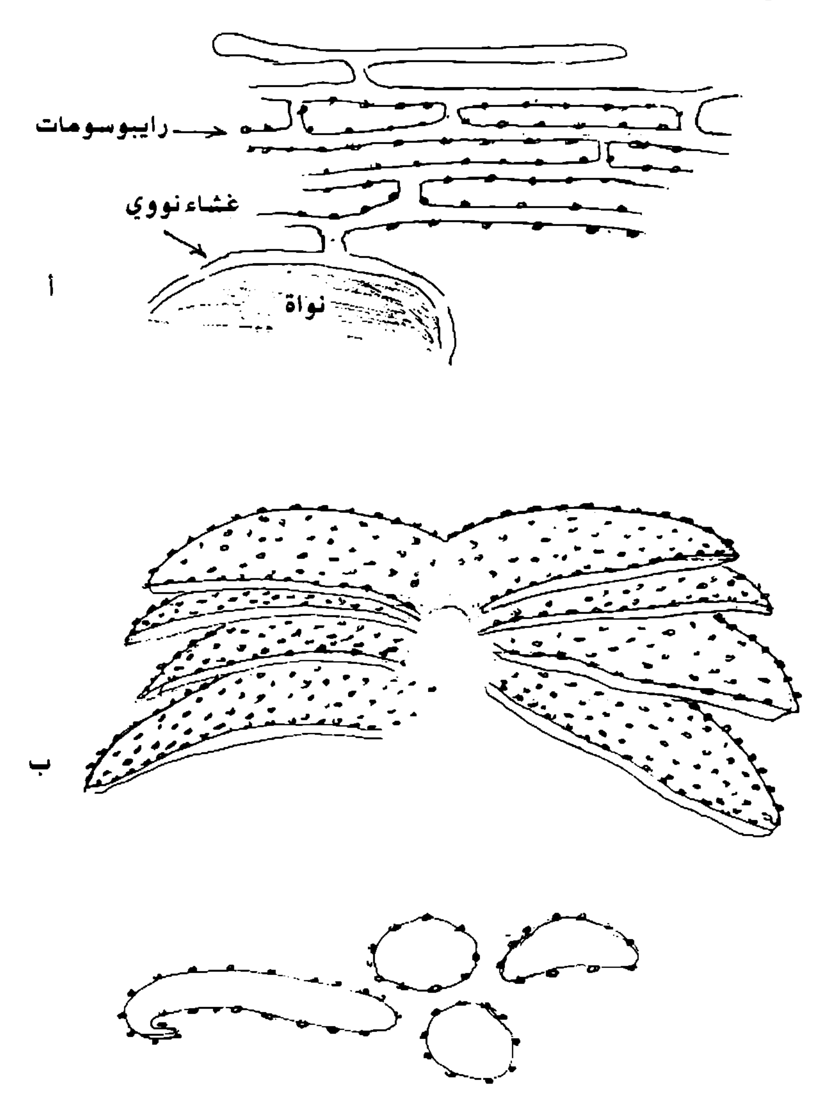
يبلغ قطر الطبقات المفلطحة التي تظهر كصهاريج ذات نهايات كروية تقريباً حـــوالي 45 نانوميتر بينما يكون قطرها في الشبكات الاندوبلازمية الانبوبية التركيب مختلف ويتراوح ما بين 40 - 50 نانوميتر .

وعلى الرغم من أن شكل الشبكة الاندوبلازمية العام هو الطبقي الصهريجي أو المفلطح الا أن هناك أشكال أخرى منها كروي وبيضوي وبعضها ذات أشكال خاصة (شكل 10 - 1) .

ففي الخلايا الصبغية في شبكية العين تأخذ الشبكية الاندوبلازمية شكلاً على هيئة صفائح شبكية ذات مركز موحد تترتب الواحدة فوق الاخرى . بينما تظهر في الخلايا العضلية محيطة بالعضلة ومرتبطة مع أجزاء منها .

كما تظهر الشبكة على هيئة أنيبوبات مفردة الغشاء ذات تشابكات معقدة جداً .

ترتبط الشبكة الاندوبلازمية مع الغشاء النووي ويعتقد الان ان الغشاء النووي هو في الحقيقة أمتداد يعود للشبكة الاندوبلازمية . كما ترتبط مع المايتوكوندريا ومع الجزء القاعدي للخلايا الضوئية (العصي) والعضلات . كما أنها ترتبط بصورة غير مباشرة مع جهاز كولجي وذلك عن طريق الحويصلات التي تغادر منها بأتجاه جهاز كولجي .



شكل 10 - 1 : تخطيط لأشكال مختلفة من الشبكات الاندوبلازمية الخشنة .

الفحص المجهري للشبكة الاندوبلازمية :

يُظهر الفحص المجهري الالكتروني للخلايا بأن هناك نوعان من الشبكات الاندوبلازمية وذلك تبعاً لمظهرها الخارجي وهما الشبكة الاندوبلازمية الخشنة Rough Endoplasmic Rcticulum والشبكة الاندوبلازمية الملساء Smoth E.R. لا توجد هناك أختلافات في التركيب الكيميائي لاغشية هذه الشبكات الا انهما تختلفان من ناحية المظهر والترتيب أحياناً . فالشبكة الخشنة تحتوي على سطحها الخارجي على أعداد كبيرة من الريبوسومات ويظهر فحص المقطع العرضي لهذه الشبكة بأن هذه الريبوسومات ترتبط بالشبكة في مواقع معينة وأن هناك أجزاء خاصة في هذه المواقع مخصصة للتآصر مع هذه الاجسام بعدما كان يعتقد سابقاً بأن الاتباط ناتج عن سلاسل عديد الببتيدات التي تنتجها والتي تنغرز بالغشاء (شكل 10 - 2) .

لقد وجد بأن أستخدام محاليل ملحية عالية التركيز يؤدي الى فصل الريبوسومات عن الشبكة . كما أن خلط الريبوسومات مع الشبكة يؤدي الى ارتباطها مرة أخرى . كما وجد بأن للريبوسومات موقع أرتباط خاص يقع جزء منه على الريبوسوم وتحديد في نهاية تحت الوحدة الكبيرة والجزء الاخر على غشاء الشبكة ويتألف الاخير من نوعين من بروتينات الريبوفورين Ribophorins . الا انه لا تعرف آلية الارتباط هذه لحد الان .

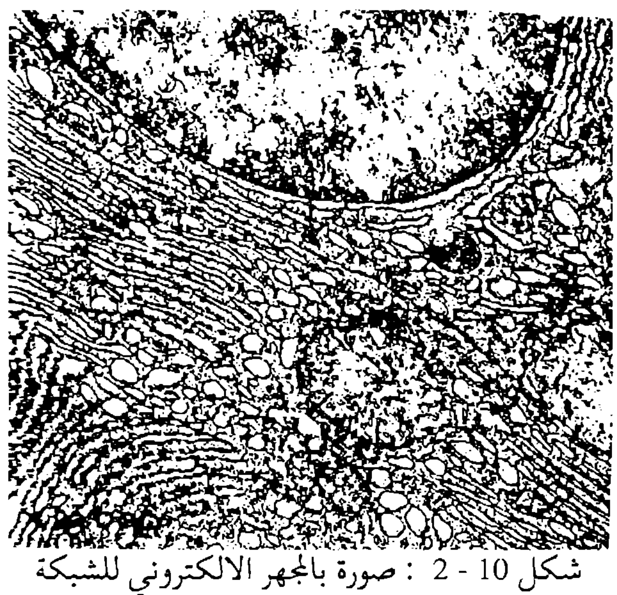
أضافة للسطح الخشن للشبكة الاندوبلازمية الخشنة فأن ترتيبها مميز حيث يترتب غشاء الشبكة على هيئة طيات صهريجية أو مفلطحة ذات نهايات منتفخة ترتبط مع بعضها جيداً .

وقد تظهر هذه الشبكة اكثر تعقيداً في بعض الخلايا كما هو الحال في الخلايا الكبدية وخلايا البنكرياس حيث تتألف من صفائح عريضة تترتب على بعضها بشكل مكدس وقد تحتوي على جزء منها غير خشن . هذا أضافة لوجود ملحقات أخرى على الجهة الخارجية من الغشاء . كما قد توجد على هيئة جزر دائرية كما هو

الحال في الخلايا العصبية أو منتشرة بشكل متجانس في السايتوبلازم كما هو في الخلايا البلازمية المكونة للاجسام المضادة (الاضداد) .

أما الشبكة الاندوبلازمية الملساء فتتميز بمظهرها الاملس الخالي من الريبوسومات وشكلها الانبوبي المعقد المتشابك .

يختلف حجم الشبكة الاندوبلازمية الملساء والمحببة أعتماداً على نوع الخلايا ونادراً ما نجد الشبكة متجانسة في الخلايا . تتألف الشبكة الاندوبلازمية الملساء من تجاويف أنبوبية متعرجة تتصل مع بعضها بشكل متشابك وقد تكون على هيئة حويصلات أو أكثر تعقيداً ومتسعة الحجم (شكل 10 - 3) .



شكل 10 - 2 : صورة بالمجهر الالكتروني للشبكة الاندوبلازمية الخشنة في خلية كبدية ويلاحظ كثافة الشبكة وأرتباطها بالنواة .

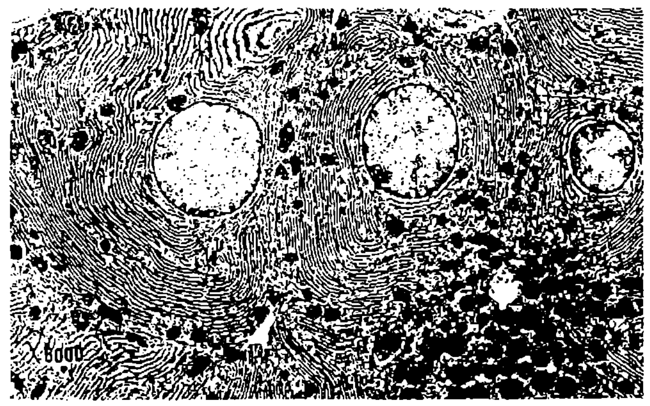
لأجل دراسة تركيب ووظيفة غشاء الشبكة الاندوبلازمية فأنه لا بد أولاً من فصل نوعي الشبكة عن بعضهما بعد تحرير العضيات السايتوبلازمية عن الخلايا بأستخدام المجانسات الكهربائية أو الزجاجية .

أن عملية تحرير الشبكة الاندوبلازمية من الخلايا يؤدي الى تهشمها وتحولها الى حويصلات مختلفة الحجم تدعى بالمايكروسومات Microsomes . أنه من السهولة تمييز المايكروسومات الناشئة عن الشبكة الاندوبلازمية الخشنة لوجود الريبوسومات على السطح الخارجي لمايكروسوماتها . الا أنه من الصعب الحكم على المايكروسومات الملساء حيث أن هناك عضيات سايتوبلازمية أخرى تتهشم أيضاً

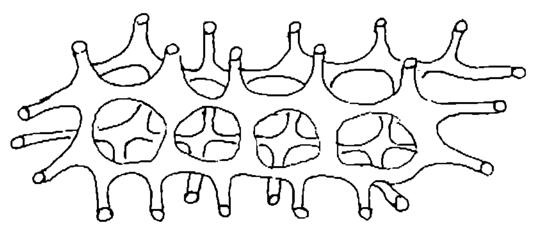
عند أستخدام المجانسات مثل أجسام كولجي والمايتوكوندريا وحتى الاجزاء الناعمة من الشبكة الخشنة وتؤدي الى تكوين حويصلات ملساء شبيهة تماماً بمايكروسومات الشبكة الاندوبلازمية الملساء .

لذلك فأنه يتم الحصول على مايكروسومات ملساء تعود للشبكة الاندوبلازمية الملساء بأستخدام خلايا كبدية لان الشبكة الملساء فيها واسعة الانتشار (شكلي 4 - 10 و 5) .

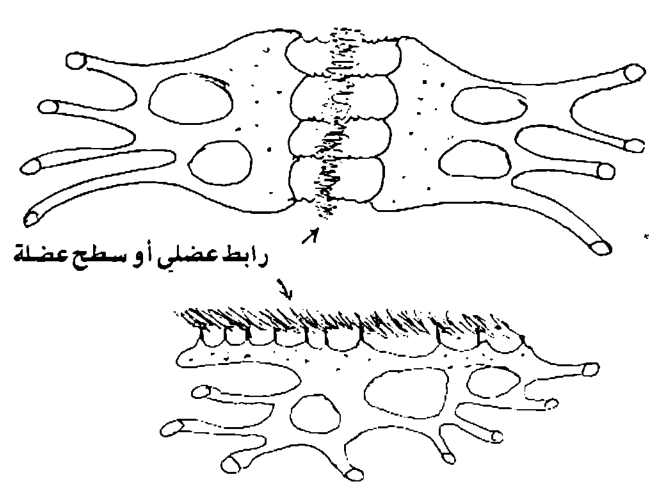
يفصل نوعي المايكروسومات عن بعضهما بالطرد المركزي حيث تتكون طبقتان علوية خفيفة تمثل المايكروسومات الملساء وطبقة سفلية ثقيلة تمثل المايكروسومات الخشنة .



شكل 10 - 3 : صورة بالمجهر الالكتروني للشبكة الاندوبلازمية التي تحيط بنوى ثلاثة خلايا . كما تشاهد الحويصلات الافرازية التي تتجمع فيها الانزيمات المفرزة من خلايا البنكرياس .



شكل 10 - 4 : تخطيط للشبكة الاندوبلازمية الملساء .



شكل 10 - 5 : أرتباط الشبكة الاندوبلازمية مع العضلات لتنظيم تحرير وخزن أيونات الكالسيوم اللازمة لعملية تقلص وأنبساط العضلة .

التركيب الكيميائي للشبكة الاندوبلازمية :

أظهر التحليل الكيميائي لغشاء الشبكة الاندوبلازمية وجود نسبة عالية من البروتين 50 - 70% والدهون 35 - 50% ونسبة قليلة من الكوليسترول 5 - 7% ويمثل الليسثين والدهون المفسفرة أغلب أنواع الدهون الموجودة في الغشاء بينما تمثل البروتينات المرتبطة مع السكر والدهن النسبة العالية من البروتينات .

كما أظهر التحليل الكيميائي لاغشية الشبكات الخشنة والملساء وجود فروق في نسب المركبات العضوية السابقة حيث يحتوي غشاء الشبكة الملساء كمية أكبر من الدهون المفسفرة والكوليسترول مقارنة مع نسبة عالية من البروتين في غشاء الشبكة الخشنة ومحتوى أقل من الدهون . الا أن الغشائين أظهرا تراكيزاً متساوية تقريباً من أنزيمات النقل الالكتروني مثل أنزيم أختزال المركب NADPH والمركب NADH والسايتوكرومات C و P450 وكذلك انزيمات الفسفرة الا انهما يختلفان في تركيز أنزيمات لها علاقة بصناعة وانتاج الدهون ومقاومة السموم وربط البروتينات بجذور من السكريات القليلة .

وظائف الشبكة الاندوبلازمية :

يظهر من التحليل الكيميائي لاغشية الشبكات الاندوبلازمية بأنها عموماً مؤلفة من نفس المركبات الا أن وجود بعض الاختلافات يعود لاهمية وظيفية حيث أن للشبكة الاندوبلازمية أهمية كبيرة جداً في حياة الخلايا . اذ تلعب الشبكة الاندوبلازمية دوراً كبيراً في بناء العضيات السايتوبلازمية الاخرى عن طريق تزويد الخلية بالاغشية اللازمة لذلك . كما أنها تضيف وبأستمرار أجزاءاً غشائية الى الغشاء البلازمي عن طريق الحويصلات الغشائية التي تنطلق عبر السايتوبلازم نحو الغشاء حيث تلتحم به . وبذلك فأن الخلية تتمكن من مواجهة زيادة الضغوط الازموزية التي قد تنشأ فيها أضافة المرونة غشاءها البلازمي .

كما تقوم الشبكة بأنتاج العديد من أنواع البروتينات وكذلك الدهون . فالريبوسومات التي تلتصق على السطح الخارجي للشبكة الاندوبلازمية الخشنة تعمل على تصنيع وأنتاج سلاسل عديد الببتيد وتطلقها الى فراغ الشبكة حيث يتم ربطها أولاً وقبل أفرازها الى السايتوبلازم بأنواع من السكريات القليلة بعملية تدعى Glycosylation وتعتبر هذه العملية أحد أهم الطرق في تزويد الخلايا بالبروتينات السكرية .

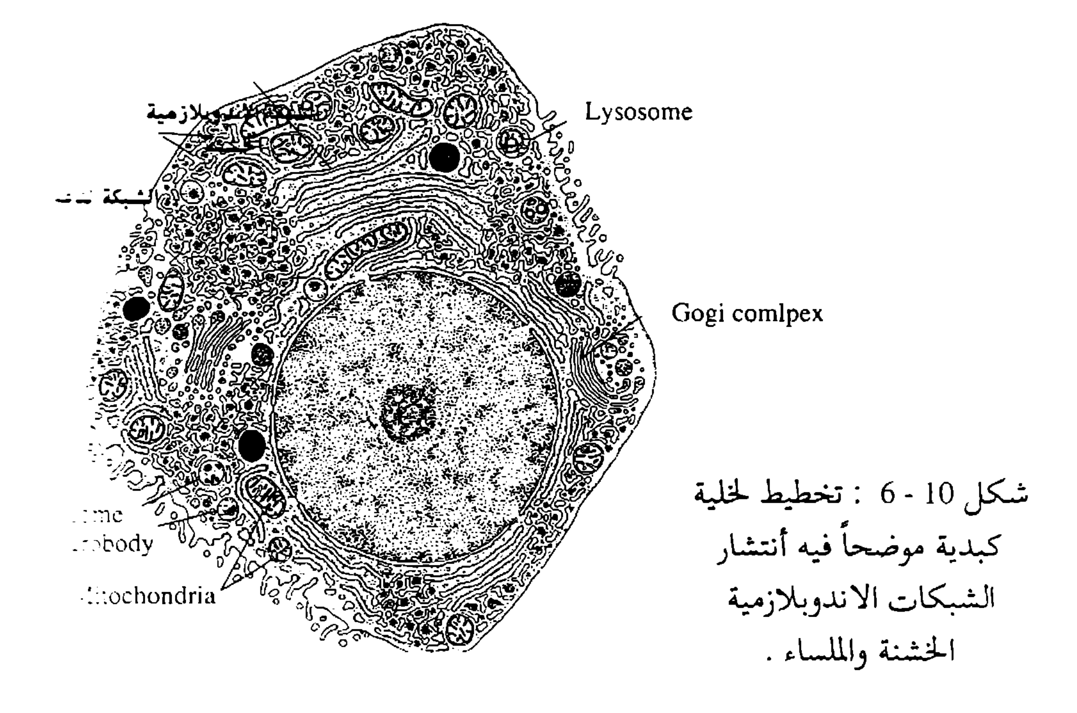
كما تقوم الشبكة الاندوبلازمية بربط بعض جزيئات البروتينات بالدهون والسكر . وتتم هذه العمليات في السطح الداخلي لغشاء الشبكة الاندوبلازمية لتوفر الانزيمات اللازمة لها على هذا السطح .

أما الشبكة الاندوبلازمية الملساء فأن دورها في أنتاج البروتينات يكاد يكون معدوماً الا أنها نشيطة تماماً في أنتاج الدهون و مكافحة السموم وذلك لتوفر أعداد مختلفة من الانزيمات ذات العلاقة على سطحيها الخارجي والداخلي (شكل 10 - 6) .

فالخلايا الكبدية على سبيل المثال تحتوي على مساحة واسعة من الشبكة الاندوبلازمية الملساء وتقوم هذه بأنتاج الدهون اللازمة لعمليات الربط مع البروتينات التي تجري في الفراغات الداخلية للشبكة الخشنة وكذلك أنتاج الليسيثين عن طريق ربط الاحماض الدهنية مع الجليسرول الفوسفاتي والكولين هذا أضافة للدور الكبير للشبكة الملساء في هذه الخلايا في تحليل السموم والعقاقير .

أذ تعمل الانزيمات الداخلية لها على تحويل المركبات السامة الى مركبات غير سامة عن طريق ربط مجاميع هيدروكسيل مع المركبات الهيدروكربونية السامة وكذلك أضافة شحنات كهربائية أو جزيئات أخرى مثل الكبريت وحامض الجلوكورونك Glucuronic acid لتمكين السموم من الذوبان لاجل أدخالها في سلسلة من التفاعلات التي تنتهي بأحاطة مكوناتها بأغشية وطرحها للخارج والتخلص منها .

كما تقوم الشبكة الاندوبلازمية الملساء بدور كبير في عملية تكوين الدهون



شكل 10 - 6 : تخطيط لخلية كبدية موضحاً فيه أنتشار الشبكات الاندوبلازمية الخشنة والملساء .

وأمتصاصها وأيصالها الى مجرى الدم لذلك فأن للخلايا الطلائية شبكة ملساء واسعة الحجم لها دور في هذا المجال . كما تقوم هذه الشبكة في الخلايا المولدة للخلايا الجنسية في الحصى والمبايض بأنتاج الستeroيدات اللازمة لصناعة الهرمونات الجنسية . كما تفرز أيضاً مثل هذه المركبات في خلايا القشرة للغدة الكظرية .

لقد بينت فحوصات المجهر الالكتروني بأن الشبكة الاندوبلازمية ترتبط بطريقة خاصة مع العضلات بشكل يوحي بأن لها دورا في عمليات الانقباض والانبساط حيث تنتشر أجزاء من هذه الشبكة حول الخلايا العضلية وفي مواقع الفصل بين الالياف العضلية في العضلات الهيكلية وعند الاقراص في العضلات القلبية .

لقد وجد حديثاً بأن للشبكة الاندوبلازمية دوراً فعلياً في التقلص والانبساط العضلي حيث أن الشبكة الاندوبلازمية تمثل مصدر أيونات الكالسيوم Ca^{++} التي تستخدمها العضلات في التقلص وتطردها الى الشبكة عند الانبساط . تخزن معظم أيونات الكالسيوم هذه في فراغات السايتوسول الخارجية للشبكات الاندوبلازمية .

الفصل الحادي عشر

جهاز أو أجسام كولجي

Golgi apparatus or bodies

مقـــدمة :

اكتشف جهاز كوجلي من قبل العالم الايطالي كاميللو كوجلي عام 1898 كمجموعة من الاغشية المرتبة بطريقة خاصة في الخلايا العصبية . ويطلق عليه أيضاً بمعقد كوجلي Golgi Complex أو أجسام كوجلي G.bodies . أن من الصعب مشاهدة جهاز كوجي عند الفحص بالمجهر الضوئي لان معامل أنكساره مشابه لمعامل أنكسار السايتوبلازم . الا انه يمكن مشاهدته عند معاملة الخلايا بأملاح الفضة أو الاوزميوم حيث يظهر الجهاز كشبكة من القنوات والصهاريج والفجوات غير منتظمة الشكل داكنة اللون . يقع جهاز كوجلي عادة بالقرب من النواة وغالباً ما يقع فوقها قرب الاجسام المركزية ويختلف مظهره وموقعه تبعاً لنوع الخلايا . ففي الخلايا الافرازية يقع الجهاز فوق النواة بينما يحيط بها في الخلايا العصبية . كما قد تحتوي بعض الخلايا على أكثر من جهاز في سايتوبلازمها . ونظراً للارتباط الكبير بين هذا الجهاز والشبكة الاندوبلازمية فأنه يقع دائماً بالقرب منها ويتميز عنها بكونه أملساً خالياً من الريبوسومات تحيط به فسحة شفافة من السايتوبلازم الخالي من البروتينات . كما أن له شكلاً مظهرياً مميزاً حيث يظهر على هيئة صفائح مقعرة – محدبة متراصة لا يبدو عليها الارتباط ومحاطة دائماً بأشكال من الحويصلات الغشائية (شكل 11 - 1) .

الفحص المجهري لجهاز كوجلي :

يظهر جهاز كوجلي واضحاً بالفحص بواسطة المجهر الالكتروني ويتألف كل جهاز من كدس من الصهاريج المرتبة واحد فوق الآخر ويفصل بين الصهريج والاخر مسافة تتراوح ما بين 20 - 30 نانوميتر . يظهر الصهريج Cisternae على هيئة تجويف بالوني مقعر من أحد السطوح ومحدب من السطح الاخر ينتهي بأنتفاخات واضحة ويحتوي في فراغه على مادة كثيفة . يبلغ أتساع فراغ الصهريج حوالي 15 نانوميتر ويختلف سمك غشاء السطح المقعر عن غشاء السطح المحدب حيث يكون غشاء السطح المحدب أرق 6 - 7 نانوميتر من غشاء السطح المقعر 7 - 10 نانوميتر .

ويظهر من أختلاف سماكة أسطح الصهاريج بأن السطح المحدب ربما يكون سطحاً غير ناضحاً بينما يكون السطح المقعر الاقرب الى تركيب الغشاء البلازمي سطحاً أفرازياً .

شكل 11 - 1 : تخطيط لجهاز كولجي موضح فيه أجزاءه وأرتباطاته مع الشبكة الاندوبلازمية والنواة .

يختلف عدد الصهاريج المؤلفة لكل كدس (يطلق عليه أحياناً بالدكتيوسوم Dictyosome) ويتألف الكدس النموذجي من ستة صهاريج وقد يصل عددها الى أكثر من 30 صهريج في خلايا حقيقية النواة الواطئة (شكل 11 - 2) .

أضافة للصهاريج فأن هناك مكونات أخرى لجهاز كولجي هي الانيبوبات Saccules التي تمتد بين الصهاريج وحولها ويبلغ قطرها حوالي 60 نانوميتر

والحويصلات Vesicles التي تترافق دائماً مع اكداس الصهاريج وهي تراكيب غشائية يبلغ قطرها حوالي 50 نانوميتر تتجمع في نهايات الصهاريج وكذلك بالقرب من الشبكة الاندوبلازمية وأعلى الكدس . تتبرعم الحويصلات الغشائية من نهاية الصهاريج بعد تحميلها بالمواد المفرزة المحوره من قبل الجهاز .

علاوة على الحويصلات الغشائية فأن الفجوات الافرازية Secretory Vacuoles التي يبلغ قطرها حوالي 1000 نانوميتر والتي تنتشر على جانبي الصهاريج وخصوصاً بالقرب من الغشاء البلازمي هي جزء من جهاز كولجي وتحتوي

على منتجات مركزة معبئة من قبل الجهاز نفسه (شكل 11 - 3) .

تنفصل بأستمرار من صهاريج كولجي العديد من الحويصلات التي تحمل داخلها أنواعاً مختلفة من البروتينات وغيرها . كما تلتحم بهذه الصهاريج أعداد أخرى من الحويصلات الافرازية القادمة من الشبكة الاندوبلازمية وهو ما يجعل جهاز كولجي غير ثابت ويتغير بأستمرار حيث تستعمل أغشية صهاريجه لتكوين الفجوات والحويصلات وبنفس الوقت يجري بناء وتعويض هذه الاغشية عن طريق التحام الحويصلات الناقلة التي تحمل منتّجات الشبكة الاندوبلازمية .

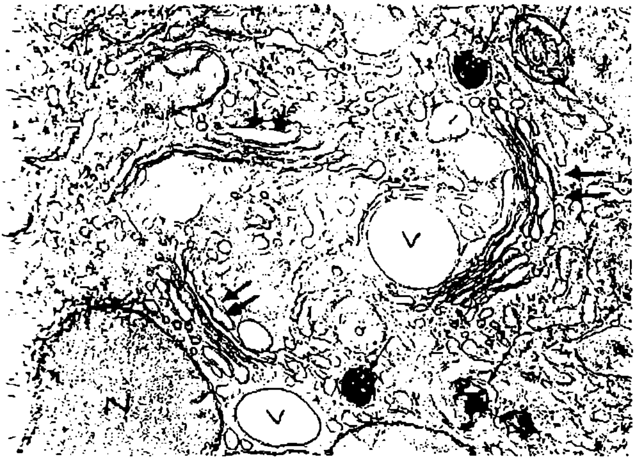
يختلف عدد اكداس الصهاريج أو الدكتيوسومات في الخلايا وذلك أعتماداً على وظيفة الخلايا . فالخلايا الافرازية كخلايا البنكرياس والخلايا الكأسية في بطانة الامعاء تحتوي على عدد كبير من هذه الاكداس يتراوح ما بين 10 - 100 كدس وتشغل حيزاً كبيراً من حجم هذه الخلايا .





شكل 11 - 2 : صورة بالمجهر الالكتروني لجهازي كولجي ويلاحظ الصهاريج المؤلفة له والحويصلات الافرازية المختلفة .

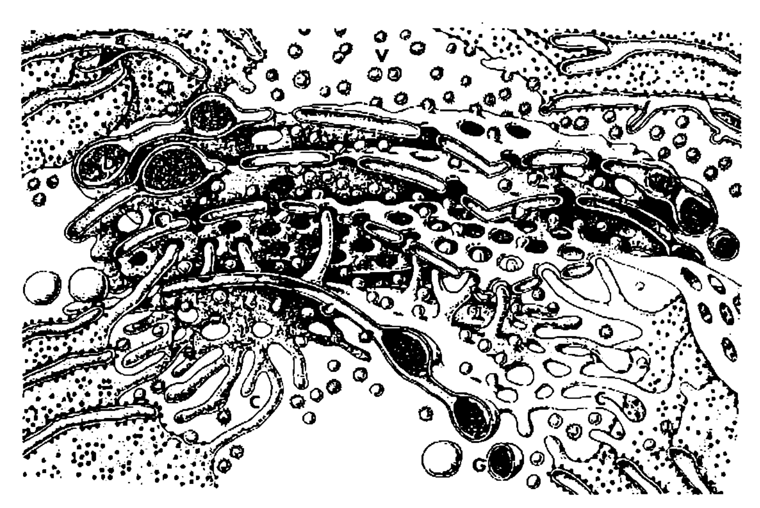
نشأة جهاز كولجي :



شكل 11 - 3 : صورة بالمجهر الالكتروني لخلية طلائية مبطنة للمجاري التنفسية يظهر فيها عدداً من أجهزة كولجي (←) وأجسام حالة (←) وحويصلات أفرازية (V) ونواة الخلية (N) .

أن وجود جهاز كولجي في موقع قريب من الشبكة الاندوبلازمية وكذلك وجود أرتباطات لبعض هذه الاجهزة في بعض الخلايا مع الغشاء النووي يبعث على الاعتقاد بأن هذا الجهاز ربما يشتق من الشبكة الاندوبلازمية بمشاركة من النواة . يرجع هذا الاعتقاد الى التحام العديد من الحويصلات الافرازية المغلفة التي تطلقها الشبكة بجهاز كولجي . تعمل هذه الحويصلات على تعويض الجهاز عن الاغشية التي يفقدها نتيجة أطلاقه المستمر للحويصلات بأتجاه السايتوبلازم والغشاء البلازمي وهو ما يشابه الالية التي يعتقد بأن الجهاز نشأ فيها . أن الافتراض المهم في هذه الآلية أن الشبكة الاندوبلازمية ربما تظهر قبل ظهور جهاز كولجي وأن هذه الاخيرة لا تلبث أن تكون الحويصلات التي تلتحم مع بعضها في موقع قريب من الشبكة . وبزيادة عدد الحويصلات الافرازية الملتحمة تظهر الصهاريج ثم يظهر جهاز كولجي الاولي الذي لا يلبث أن يتطور مع زيادة عدد الصهاريج المكونة له .

أضافة لتزويده بالانزيمات اللازمة التي يتم صنعها من قبل ريبوسومات الشبكة الاندوبلازمية لتصله عبر الحويصلات التي تلتحم معه (شكل 11 - 4) .



شكل 11 - 4 : تخطيط للترابط الوثيق بين الشبكة الاندوبلازمية وجهاز كولجي موضحاً فيه التداخلات في أجزاء كل منهما مع الآخر أضافة أضافة لدور الحويصلات الغشائية في هذا الترابط .

أما دور النواة في بناء هذا الجهاز فأنه يعتقد بأنه دور غير مباشر يتمثل في تكوين الاحماض النووية المرسالة التي تستخدمها الريبوسومات في بناء البروتينات . وهو دور يؤثر ليس فقط على نمو وتطور جهاز كولجي بل يمتد ليشمل جميع نواحي الحياة في الخلايا .

يظهر مثل هذا الدور واضحاً عند أزالة النواة من الخلية حيث تبدأ العضيات السايتوبلازمية خصوصاً الشبكة الاندوبلازمية وجهاز كولجي بالانحسار والاضمحلال عبر تقلص وأنكماش أغشيتهما مما يؤدي الى أنخفاض أعداد التعرجات والانبعاجات الغشائية وقد يصل في جهاز كولجي الى أنخفاض أعداد الصهاريج المؤلفة له .

فقد أزيلت نواة خلية أميبية لفترة من الزمن وشوهد في الخلية مثل هذه التطورات التي تحدثنا عنها حيث حصل أضمحلال واضح في الشبكة الاندوبلازمية وجهاز كولجي ولا تلبث هذه أن تستعيد عافيتها وطبيعتها الاولية بعد ساعات من أعادة النواة الى هذه الخلية .

كما وجد بأن معاملة الخلايا بمواد مثبطة لانتاج الاحماض النووية المرسالة يؤدي أيضاً الى أضمحلال جهاز كولجي بنفس الطريقة التي تحصل معه عند أزالة النواة . أن ذلك يدفع للاعتقاد بأن بعض أغشية هذا الجهاز ربما يتم تكوينها داخل السايتوبلازم عن طريق ربط البروتينات مع الدهون وغيرها أضافة للاغشية المضافة من قبل الحويصلات الافرازية .

التحليل الكيميائي لجهاز كولجي :

أوضح التحليل الكيميائي لاغشية جهاز كولجي الارتباط بين هذه الاغشية وأغشية الشبكة الاندوبلازمية وغشاء البلازما . أذ تبين بأن تركيب أغشية جهاز كولجي هو وسط بين تركيب أغشية الشبكة الاندوبلازمية والغشاء البلازمي حيث تبلغ نسبة الدهون المؤلفة لغشاء جهاز كولجي حوالي 46% مقارنة مع 62% في أغشية الشبكة الاندوبلازمية و 40% في أغشية البلازما .

بينت فحوصات المجهر الالكتروني لأغشية جهاز كولجي بأن السطوح المعقرة للصهاريج والمواجهة للغشاء البلازمي هي السطوح الفارزة في الجهاز وأن لها سماكة وكثافة الكترونية مماثلة لسماكة وكثافة غشاء البلازما . لذلك فأن الاغشية المحيطة بالحويصلات المنطلقة من هذه السطوح بأتجاه غشاء البلازما تكون على الاغلب مماثلة لتركيب الغشاء البلازمي . كما أوضحت نفس الفحوصات بأن السطح المحدب لصهاريج الجهاز المقابلة للشبكة الاندوبلازمية والتي تلتحم عنده الحويصلات الافرازية القادمة من الشبكة ذو سماكة وكثافة الكترونية مماثلة لما موجود في أغشية الشبكة الاندوبلازمية .

أن ذلك يدفع بالاعتقاد بأن التركيب الكيميائي التفصيلي لاغشية السطوح المحدبة يختلف عن ما هو لاغشية السطوح المقعرة حيث يفترض تماثل اغشية السطوح المقعرة مع تركيب الغشاء البلازمي .

أن ما يدعم هذا الاعتقاد هو أحتواء السطوح الداخلية لاغشية جهاز كولجي

على أنزيمات مشابهة لما موجود على السطوح الداخلية لاغشية الشبكة الاندوبلازمية مثل أنزيمات السايتوكروم C المختزلة لمركبات الطاقة NADPH و NADH وأنزيم TPPase . كما توجد أيضاً أنزيمات مشابهة لما موجود على السطح الداخلي لغشاء البلازما مثل الانزيمات 5 - nuclotidase و B-leucyl naph-thulamidase و Thiamine pyrophosphatase أضافة لوجود أنزيمات أخرى مثل الانزيم N- acetyl glucosamine و Galactosyl transferase و G6, P و ATPase و Acid phosphatase .

كما أن نتائج التحليل الهستوكيميائي الذي أجري لمعرفة المكونات الكاربوهيدراتية والبروتينية والدهنية في أغشية جهاز كولجي بينت أن هناك أختلافاً في نسب هذه المركبات عند السطوح المحدبة والمقعرة حيث كانت نسبها عالية عند السطوح الناضجة المقعرة مقارنة بنسبها في السطوح المحدبة .

أوضحت هذه التحاليل أيضاً وجود تدرج في كثافة هذه المركبات في صهاريج الجهاز . إذ تزداد هذه المركبات بأتجاه الصهاريج الداخلية وتقل عند الصهاريج العلوية المواجهة لغشاء البلازما .

أن مثل هذا الاختلاف في الكثافة لا بد وأن يخدم الوظيفة التي يقوم بها هذا الجهاز .

وظائف جهاز كولجي :

إن الوظيفة الرئيسية لجهاز كولجي هي تغليف المنتجات التي تصله من الشبكة الاندوبلازمية بعد تحويرها وانضاجها . وان البروتينات التي تصل الى الجهاز قد تصل على هيئة سلاسل عديد ببتيد مرتبطة بسكريات قليلة ويتم تشكلها بهيئتها النهائية بعد تحويرها داخل فراغات صهاريج الجهاز . يعتقد الان ان مصدر الجزيئات الكبيرة في الخلايا هي أغشية جهاز كولجي وان هذه الاغشية تسيطر على عملية أطلاقها .

أن معظم هذه الجزيئات لا بد وان تمر في مرحلة ما من مراحل تكوينها في جهاز كولجي حيث يتم تحويرها بربط سكريات قليلة مع أسبرجين البروتينات المنتجة من الشبكة الاندوبلازمية الخشنة وكذلك أضافة كبريت أو أحماض دهنية لمواقع السيرين و الثيرونين .

تختلف انواع السكريات التي يتم ربطها مع البروتينات ولكن يمكن تمييز نوعين من السكريات المرتبطة وهي السكريات القليلة المعقدة وسكريات قليلة غنية بالمانوز . كما قد تحتوي بعض البروتينات على نوعي السكريات . تحتوي السكريات القليلة غنية المانوز على سكر مانوز وأستيل جلوكوز أمين N-acetylglucosamine . بينما تتألف السكريات القليلة المعقدة أضافة للسكريات السابقة على عدد من جزيئات الجلاكتوز وقليل جداً من جزيئات حامض السيالك الذي له أهمية في شحن البروتينات السكرية بشحنة سالبة .

تقوم الشبكة الاندوبلازمية الخشنة بأضافة بعض السكريات الى سلاسل عديد الببتيد المفرزه الى فراغها وتستكمل عملية أضافة السكريات بعد ذلك في فراغات صهاريج اكداس كولجي وتحتاج هذه العمليات الى عدد من الانزيمات . وأستناداً الى تجارب أستخدام النظائر المشعة فأن عملية أنتاج السكريات وخصوصاً المانوز والجلاكتوز وحامض السيالك تتم في فراغات صهاريج جهاز كولجي وقد تنتقل الى الشبكة الاندوبلازمية ليتم ربطها مع البروتينات لتوفر بعض الانزيمات الرابطة على السطح الداخلي لغشاء الشبكة . لقد بينت نتائج الفحوصات الهستوكيميائية التي أجريت على الشبكة الاندوبلازمية وجهاز كولجي للخلايا الكبدية وجود مثل هذه الانزيمات . كما أثبتت هذه النتائج وجود أنزيم الجلاكتوسيل ترانسفيريز Galactosy l transferase مرتبط فقط مع اغشية صهاريج جهاز كولجي ويستخدم هذا الانزيم الان في تمييز الحويصلات الملساء لجهاز كولجي عن غيرها من الحويصلات التي تنشأ عند تحطيم الخلايا لفصل عضياتها السايتوبلازمية .

أن الفحص بالمجهر الالكتروني لخلايا تم تربيتها على وسط غذائي يحتوي على سكر مانوز موسم بنظير الهيدروجين الثالث (H^3) لفترة قصيره أوضح بأن موقع هذا السكر يكون في الشبكة الاندوبلازمية .

كما تم تحديد موقع سكر الاستيل جلوكوز أمين عند استخدام نفس الطريقة في الشبكة الاندوبلازمية وجهاز كولجي . فيما تم تحديد موقع الجلاكتوز وحامض السيالك في جهاز كولجي فقط . كما بينت تجارب أستخدام النظائر المشعة بتحرك البروتينات من الشبكة الاندوبلازمية نحو جهاز كولجي ثم انتقالها الى مواقع مختلفة داخل الخلايا حيث تأخذ عملية انتقال البروتينات الى جهاز كولجي حوالي 10 دقائق وتأخذ 30 - 60 دقيقة للانتشار من الجهاز الى أنحاء مختلفة من الخلايا .

لا يقتصر عمل جهاز كولجي على تحوير وتغليف البروتينات المهاجرة اليه من الشبكة الاندوبلازمية بل يحتمل أنه يقوم أيضاً بأنتاج بعض المركبات الكاربوهيدراتية والبروتينات حيث تزخر أغشيته الداخليه بأنواع مختلفة من الانزيمات مثل الثايمين بايروفوسفاتير والنفثايل أمايديز والجلوكوز أمين ترانسفيريز و G6P والفوسفاتيز الحامضي وغيرها والتي لها دور بنائي أضافة للمساهمة في توفير الاواصر اللازمة لربط المركبات السكرية مع البروتينات .

أن معظم الافرازات المخاطية التي تفرزها الخلايا الكأسية في بطانة الامعاء وغيرها تصنع أولاً داخل صهاريج كولجي التي يعج بها سايتوبلازمها ثم تفرز بعد ذلك نحو السطح الخارجي . أن النواتج المخاطية لهذه الخلايا تتألف من هيكل بروتيني مرتبط مع أنواع من السكريات مثل الجلاكتوز والاستيل جلوكوز آمين وحامض السياليك .

ويعتقد بأن معظم هذه السكريات يتم تصنيعها من جزيئات الجلوكوز داخل صهاريج كولجي حيث تتوفر فيها الانزيمات البنائية اللازمة لذلك .

أضافة لذلك فأنه يعتقد بأن الجهاز يقوم أيضاً بربط الكبريت ببعض المنتجات مثل السكريات وسلاسل عديد الببتيد . يأتي هذا الاعتقاد من تركيز الكبريت داخل جهاز كولجي حيث بين الفحص المجهري وجود الكبريت كبقع فضة أو سوداء عند أستخدام الكبريت الموسم في الاوساط الغذائية لتربية الخلايا .

أن العديد من الخلايا الافرازية تقوم بأنتاج موادها وطرحها الى السايتوبلازم على هيئة حويصلات مغلفة تنفصل بأستمرار من نهايات صهاريج أجهزة كوجي . كما تفرز بعض المواد مباشرة الى السايتوبلازم دون تغليف .

تحمل بعض الحويصلات نواتج أفرازية خاصة لتصديرها الى خارج الخلايا لذلك فأن مثل هذه الحويصلات تأخذ طريقها مباشرة بأتجاه الغشاء البلازمي لتلتحم معه لتطرح محتوياتها الى الخارج . بعض الافرازات تطرح الى الخارج مغلفة كما هو الحال في الفضلات وبعض الهرمونات والانزيمات ويعمل الغشاء البلازمي على أحتياطتها وأفرازها .

لهذا فأن الغشاء البلازمي يفقد أجزاء منه عبر هذه المهمة ويستعيض عن هذه الاجزاء المفقودة بأغشية الحويصلات الملتحمة معه . لذلك فأن جهاز كولجي يلعب دوراً كبيراً في تعويض الاغشية البلازمية ومساعدتها على أصلاح الاضرار الميكانيكية التي قد تحصل له تماما كمساهمة الشبكة الاندوبلازمية في تعويض جهاز كولجي عن أغشيته التي يفقدها عند تكوينه الحويصلات الافرازية .

بعض الحويصلات التي تنشأ من نهايات صهاريج كولجي تنطلق نحو السايتوبلازم وتبقى سابحة فيه . لقد وجد من أستخدام النظائر المشعة بأن العديد من هذه الحويصلات تحتوي على أنزيمات هاضمة ونطلق على هذه الحويصلات بالاجسام الحالة او اللايسوسومات Lysosomes . لقد تم تشخيص العديد من أنواع هذه الاجسام التي تحتوي على أنواع من الانزيمات مثل الهايدروليز Hydrolase والتايروسينيز Tyrosinase وحبيبات بيتا B-granules

والبيروكسيديز Peroxidase . لقد بينت الفحوصات الهستوكيميائية التي أجريت بالمجهر الالكتروني بأن هناك تركيزاً عالياً لمثل هذه الانزيمات موجودة في النهايات الكروية لصهاريج أجهزة كولجي مما يؤكد بأن مصدر الاجسام الحالة في الخلايا هي أجهزة كولجي .

كما شخصت بعض الحويصلات الغزيرة بالماء فقط والتي من الممكن أن تمثل خزانات مائية أحتياطية تستخدمها الخلايا في حالة الجفاف أو العطش وهي تمثل في هذه الحالة فجوات مائية .

أضافة للوظائف السابقة فأنه وجدت مواقع للنقل الفعال لايونات الصوديوم والبوتاسيوم في أغشية أجهزة كولجي في الخلايا العصبية . ويعتقد بأنها تعمل على ضخ هذه الايونات الى السايتوبلازم لتوفير القطبية اللازمة لاغشية هذه الخلايا واللازمة لنقل السيالات العصبية .

الفصل الثاني عشر

الاجسام الحالة Lysosomes
والبيروكسيمات Peroxisomes
أو الاجسام الدقيقة or Microbodies

لم تكن الاجسام الحالة (اللايسوسومات) معرفة قبل عام 1949 وقــــد تم الاحساس بوجودها أثناء الدراسات الكيميائية التي أجريت أنذاك على الانزيمات التي لها علاقة بأيض الكاربوهيدرات . لقد لوحظ من خلال هذه الدراسات وجود شذوذ غير منتظم في تفاعلات أنزيمات التحليل المائي المتعلقة بالفوسفاتيز الحامضي . فقد سجلت زيادة عالية في النشاط الانزيمي عند أستخدام مستخلصات خلوية مذابة في الماء مقارنة بنشاط منخفض في المستخلصات المذابة في محلول سكري متوازن . كما سجل أرتفاع في النشاط الانزيمي عند أستخدام مستخلصات سبق حفظها لفترة من الزمن مقارنة مع نشاط منخفض في المستخلصات الخلوية الحديثة التحضير . لقد كانت جميع حالات الشذوذ الكيميائي هذه ترتبط مع رواسب لاجسام صغيرة جداً .

لقد أدت هذه الملاحظات الى أفتراض وجود أجسام خلوية في الخلايا لها دور في عمليات ايض البروتينات والكاربوهيدرات وغيرها وهي المسؤولية عن الشذوذ الذي تم ملاحظته في الدراسات السابقة .

وقبل رؤية هذه الاجسام تحت المجهر فأن العلماء طوروا طرقاً كيميائية خاصة للاستدلال على وجودها وتعتبر طريقة جومري Gomori التي تستخدم للكشف عن وجود أنزيم الفوسفاتيز الحامضي عن طريق أملاح الرصاص أحدى التقنيات الهستوكيميائية الرائدة في هذا المجال .

وكنتيجة لذلك فقد تم تفسير الشذوذ في التفاعلات الانزيمية عند أستخدام مستخلصات خلوية مخزنة أو مذابة في الماء الى ان ذلك يؤدي الى تدمير اكياس اللايسوسومات وأنتشار الانزيمات الهاضمة بتركيز عالي مقارنة مع التركيز المنخفض لها في المستخلصات الحديثة أو المذابة في محلول سكري متوازن .

في عــام 1915 وبأستخدام طريقة الترسيب الالكتروني الكثيف Electron - dense Precipitate تمكن كريستيان دي دوف من مشاهدتها بالمجهر ووصفها ووجد بأنها مؤلفة من حويصلات ذات غشاء مفرد محملة بالانزيمات الهاضمة .

وبأستخدام تفاعلات الكشف عن أنزيمات التحليل المائي للمركبات الكاربوهيدراتية وغيرها وبالفحص المجهري بالمجهر الالكتروني تم التعرف على وجود اكثر من 60 أنزيماً هاضماً في اللايسوسومات مما يوضح الاهمية الوظيفية البالغة لهذه الحويصلات .

لقد أمكن رؤية الاجسام الحالة التي يتراوح قطرها ما بين 0.25 الى 0.5 مايكروميتر في جميع الخلايا الحيوانية تقريباً والحيوانات الاولية بأستثناء كريات الدم الحمراء . توجد الاجسام الحالة بأحجام وهيئات مختلفة داخل الخلية على عكس بقية العضيات السايتوبلازمية مما يعكس الدور المتنوع لها في عملية تحليل المواد (شكل 12 - 1) .

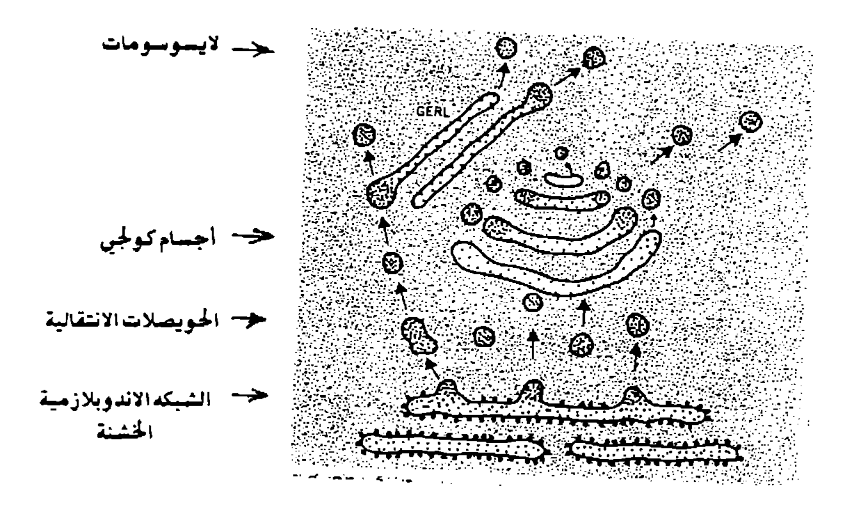
يمكن تمييز مجموعتين من الاجسام الحالة في الخلية وهي الاجسام الحالة الاولية Primary Lysosomes وهي اللايسوسومات حديثة التكوين وتتميز بصغر حجمها وقربها من أجسام كولجي أو حولها وبأحتوائها على أنزيمات هاضمة فقط قد تكون غير نشيطة ولكنها تصبح فعالة بعد برهة من الزمن والاجسام الحالة الثانوية .Secondary Lys وهي ذات أشكال وأحجام مختلفة ولكنها اكبر كثيراً من الاجسام الحالة الاولية ويمكن مشاهدتها في مواقع مختلفة من الخلية . تنشأ الاجسام الحالة الثانوية من التحام أجسام حالة أولية مع فجوات غذائية أو فجوات ذات عضيات يراد تحطيمها والتخلص منها .

ونتيجة لاختلاف حجم الاجسام الحالة الثانوية فقد سميت بأسماء أخرى فمثلاً عند التحام لايسوسوم مع فجوة غذائية ناتجة عن التهام خارجي Phagocytosis لجسم أو مادة كبيرة الحجم مثل البكتيريا فأن الفجوة المتحدة تدعى بالفجوة الهضمية Digestive Vacuole أو للايسوسوم المتباين -Hetero phagosomes . بينما تدعى الفجوة الناتجة من التحام لايسوسوم مع فجوة غذائية ناتجة عن التهام ذاتي Autophagy مثل التهام مايتوكوندريا أو غيرها من العضيات الداخلية باللايسوسوم الذاتي Autophagosomes .

كما تدعى اللايسوسومات التي تحتوي بداخلها على حويصلات

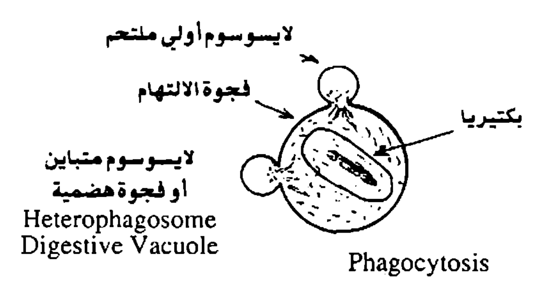
دقيقة بالاجسام متعددة الحويصلات Multivesicular bodies (شكل 12 - 2) .

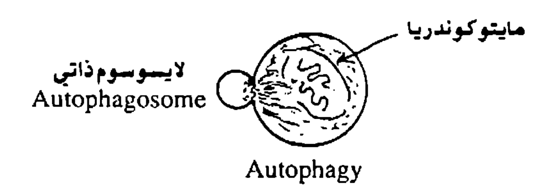
تتم عملية هضم المواد الغذائية داخل اكياس اللايسوسومات الثانوية تتحرر بعدها المواد الاولية النافعة متجهة نحو السايتوبلازم بينما تبقى فضلات الهضم غير القابلة لمزيد من التحلل داخل اكياس اللايسوسوم الثانوي ونتيجة لاستهلاك المادة المهضومة والانزيمات تنكمش هذه اللايسوسومات لتصبح مخازن لفضلات تفاعلاتها وتدعى عندئذٍ بالاجسام المتبقية Residual bodies .

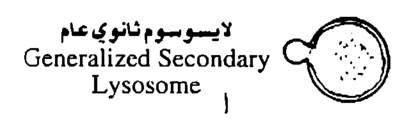


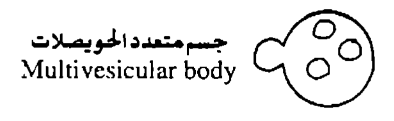
شكل 12 - 1 : تخطيط يوضح مراحل تكوين الاجسام الحالة موضحاً فيه دور الشبكة الاندوبلازمية الخشنة وأجسام كولجي .

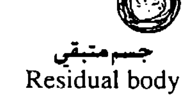
تقوم الخلايا بالتخلص من الفضلات المتجمعة في الاجسام المتبقية بطرق مختلفة . فالخلايا النباتية لاتتمكن من طرح هذه الفضلات خارجاً بسبب أحاطتها بجدار سيليلوزي صلب لذلك فأنها تعمل على تجمعها داخل فجوات خاصة بذلك تمثل مكباً للنفايات . وتشارك الخلايا النباتية مثل هذه الالية العديد من الخلايا الحيوانية . بينما تقوم خلايا أخرى بالتخلص من نفاياتها بطرحها خارج غشاءها الخلوي وذلك بألتحام الاجسام المتبقية مع الغشاء البلازمي وطرد الفضلات الى الخارج .











شكل 12 - 2 : أنواع مختلفة من اللايسوسومات التي تشاهد في الخلايا الحية .

أن عملية تراكم الاجسام المتبقية في سايتوبلازم الخلايا يؤدي الى تقليص حجم المساحة الفعالة داخلها ويعتبر تراكم هذه الاجسام أحد الاسباب التي تؤدي الى ظهور الهرم أو الشيخوخة على الخلايا الذي يسبق الموت . بعض الفضلات نافع لانواع معينة من الخلايا لذلك فأن الاجسام المتبقية الخازنة لهذه الفضلات

كالحديد والنحاس تتحلل داخل السايتوبلازم مطلقة هذه المواد لأعادة تدويرها وربطها مع مركبات نافعة للخلايا . ويذكر بأن العديد من الانزيمات والانزيمات المساعدة والعوامل المساعدة ومركبات الطاقة الوسيطة تحتوي على عناصر معدنية ضرورية لفاعليتها .

تظهر الاجسام المتبقية بعد صباغتها وفحصها بالمجهر الالكتروني كتركيبات غشائية محاطة بحلقات وتميل لتجميع الدهون التي تتأكسد مع مرور العمر ليتحول الى صبغة ليبوفوسين Lipofuscin تظهر واضحة في العضلات القلبية والخلايا العصبية المتقدمة في العمر .

تحاط الاجسام الحالة بغشاء مفرد يبلغ سمكه حوالي 7 نانوميتر ويشتق على الاغلب من أغشية جهاز كولجي . ونظراً لان الاجسام الحالة يمكن أن تلتحم مع الفجوات الغذائية التي تنشأ كحويصلات من الغشاء البلازمي لذلك فأن أغشية الاجسام الحاله الثانوية تبدي أضافة لمظاهر أغشية كولجي بعض مظاهر وصفات غشاء البلازما .

يمتلك غشاء الاجسام الحالة مواصفات فريدة تساعد كثيراً في أداء مهمة هذه العضيات . فالغشاء يحتوي على نشاط متميز ومنظم لتحليل جزيئات الطاقة ATP لتزويد محلول الانزيمات بأس هيدروجيني مناسب لعملها وهو 5 (PH 5.0) عن طريق أطلاق آيونات الهيدروجين الموجبة حيث تعمل جميع أنزيمات التحليل المائي المخزونة في اللايسوسومات مثل أنزيمات البروتييز والنيوكليزو الفوسفوليبيز والفوسفاتيز والسلفاتيز والجلوكوسايديز والليبيز وغيرها عند هذا الاس الهيدروجيني وتفقد نشاطها عند زيادته أو نقصانه وهو ما يجعلها أمينه وغير نشيطة عند تسربها الى السايتوبلازم في بعض الحالات .

كما أن غشاء الاجسام الحالة غير نفاذ للانزيمات وأنه يحتوي على مواقع متخصصة تسمح له بالالتحام مع أغشية الفجوات الغذائية أو غشاء البلازما .

أن مثل هذه الصفات الفريدة لهذا الغشاء تدل على أن تركيبه الاساسي مماثل

لتركيب الاغشية التي أشتق منها (أغشية صهاريج كولجي) الا أنه يمتلك بعض التحورات الخاصة التي لم يتم الكشف عنها لحد الان .

تلعب الاجسام الحالة أدواراً متنوعة في الخلايا . فأضافة الى دورها في هضم المواد الغذائية وتحليلها الى مواد أولية نافعة فأن لها دوراً مهماً في عملية السيطرة على أفراز الخلايا وغيرها .

أن العديد من العضيات السايتوبلازمية كالشبكة الاندوبلازمية والمايتوكوندريا وغيرها يمكن أن تتعرض للاضرار التي تؤدي الى تلف جزء منها أو أتلافها كلياً كما هو الحال في حالات الاصابة بالامراض المختلفة والتقدم بالعمر . لذلك فأن الخلايا تلجأ الى التخلص من الاجزاء المتضررة أو العضيات المتضررة عن طريق أحاطتها بغشاء وأطلاقها في السايتوبلازم حيث تلتحم معها الاجسام الحالة لتقوم بهضمها والتخلص منها . وتدعى عملية التهام هذه بالالتهام الذاتي Crinophagy .

كما يمكن مشاهدة الالتهام الذاتي في أنسجة المبيض بعد كل دورة تبويض حيث يتم خلال ذلك تحلل الجسم الاصفر Corpus Luteum حيث تتحرر الانزيمات الهاضمة من الاجسام الحالة نحو الجسم الاصفر وتؤدي بعد ذلك الى اندثاره وتحلله . كما تساهم الانزيمات الهاضمة التي تفرزها الاجسام الحالة في تحلل انسجة يرقات الحشرات والافاعي أثناء الانسلاخ .

أن الفحوصات الهستوكيميائية التي أجريت على نماذج نسيجية مأخوذة من ذيل يرقات الضفادع بينت بأن عدد الاجسام الحالة في أنسجة ذيول اليرقات يزداد بأضطراد كلما تقدمت اليرقات نحو الطور البالغ . ويبدو من ذلك بأن زيادة عدد الاجسام الحالة له علاقة بأختفاء ذيول اليرقات لأجل تحويلها الى بالغات .

يغطي رأس الحيوانات المنوية تركيب غشائي كبير مشتق من أجسام كولجي يمثل لايسوسوماً عملاقاً يحتوي على كمية كبيرة من الانزيم المحلل لغلاف البويضات . لقد وجد من خلال دراسة آلية الاخصاب التي تحصل بين الحيوانات المنوية والبويضات بأن غشاء الاكروسوم Acrosome الذي يمثل الجسم الحال

الامامي في الحيوان المنوي يلتحم مع غشاء البويضة بعد عدة ثواني من التصاق الحيوان المنوي بالبويضة يتبعها أنطلاق الانزيمات الهاضمة منه لفتح الطريق امام نواته للدخول الى داخل البويضة .

ولا يلبث غشاء البويضة بعد ذلك أن يلتحم ثم تبدأ عملية بناء أغلفة أضافية حول البويضة لتكوين غشاء الاخصاب لمنع أختراق حيوانات منوية أخرى . أن عملية الالتحام الاخصابي متخصصة جداً ولا تحصل بين الحيوانات المنوية نفسها أو البيوض بل بين البيوض والحيوانات المنوية وهو ما يدل على وجود مستقبلات متخصصة للانزيمات الهاضمة على سطح البيوض دون الحيوانات المنوية . ويبدو من ذلك بأن عملية الاخصاب محكومة بعوامل كثيرة منها دور اللايسوسوم القمي (الاكروسوم) للحيوانات المنوية .

كما يبرز دور اللايسوسومات واضحاً في وظيفة كاسرات العظام Osteoclasts حيث تقوم هذه العضيات بأفراز انزيماتها في الفراغات الضحلة التي توجد فيها أو بقربها وتعمل على تحليل وأزالة الياف الكولاجين والاملاح اللاعضوية من العظام وأطلاقها الى الدم . ويبدو عمل هذه الخلايا كبيراً في الاعمار المتقدمة في الانسان حيث تزداد عملية تآكل العظام وهو ما يؤدي الى هشاشة العظام التي تنتشر بين المسنين .

تمتلك خلايا الجسم عموماً عمراً معينا تنتهي بعدها بالموت . ويبدو بأن هناك اليات مختلفة تتمكن من خلالها الكائنات من التخلص من الخلايا الهرمة أو المريضة ويعتبر الموت المبرمج او الانتحار الذاتي Apoptosis أحد هذه الطرق . ويعتقد بأن للاجسام الحالة دوراً بارزاً في هذه العملية حيث يتم تحليل الخلايا وقتها ذاتياً عن طريق أطلاق الانزيمات وايقاف العمليات الايضية برمتها .

تعمل الاجسام الحالة على تنظيم الافراز في الخلايا الافرازية وخصوصاً خلايا الغدد . ففي الخلايا الفارزة للحليب في أثدية اللبائن تقف عملية الافراز بعد الفطام بفترة زمنية . ويلاحظ نشاط عالي في عملية الالتهام الذاتي لحبيبات الحليب التي

يتم أنتاجها وأعادة تدويرها داخل الخلايا الفارزة حتى استلام هذه الخلايا للاشارات الهرمونية اللازمة لايقاف الافراز . وتلاحظ مثل هذه العملية كثيراً في خلايا الغدد ذات الافراز الداخلي Endocrine cells مثل خلايا الفص الامامي للغدد النخامية .

كما تقوم الاجسام الحالة بدور بالغ في بناء وأنتاج بعض الهرمونات والمواد الاخرى مثل أنتاج الثايروكسين T4 والثيرونين ثلاثي اليود T3 والكوليسترول .

تقوم الخلايا الحويصلية للثايرويد بتخزين منتجاتها الافرازية كجزيئات كبيرة في الفراغ خارج الخلايا وتكون هذه المنتجات على هيئة جلايكو بروتين يوديدي وثايروجلوبيولين Thyroglobulin .

أما الهرمونات النشيطة التي تفرز الى المجرى الدموي فهي تكون على هيئة ثايرونين ثلاثي اليود (T3) Tri-iodothyronine وثايرونين رباعي اليود (T4) أو ثايروكسين Tetra-iodothyronine . يتم أنتاج هرموني T3 و T4 عن طريق أدخال الجزيئات المخزونة خارج الخلايا بعملية الالتهام حيث تلتحم اللايسوسومات مع الفجوات المحملة بالجزيئات الكبيرة لتعمل الانزيمات الهاضمة على تحليل هذه الجزيئات وانتاج الهرمونات لتتسرب الى المجرى الدموي بعد ذلك .

وتشاهد مثل هذه الآلية أيضاً في خلايا بيتا في جزر لانكرهانس حيث يتم تحويل الانسولين الاولي Proinsulin الى أنسولين .

أن جميع الخلايا تقريباً تحتاج الكوليسترول كمادة أولية لبناء و أصلاح غشاءها البلازمي وتقوم ببناءه داخلياً الا انها تستطيع الحصول عليه من الخارج . يحتوي الدم على سبيل المثال على كوليسترول بهيئة معقد بروتين - دهني ذو كثافة منخفضة Low-density lipo protein - LDL وتستطيع الخلايا الحصول على هذا المعقد عن طريق الالتهام بعد أرتباطه بمستقبلات متخصصة تقع على السطح الخارجي لأغشيتها البلازمية ثم تقوم اللايسوسومات بتحليله وانتاج الكوليسترول الذي يهاجر بالقرب من الغشاء البلازمي . وينشأ مرض فرط

الكوليسترول Hypercholesterolaemia نتيجة فقدان خلايا الجسم لمستقبلات مركب LDL فيبقى المركب في الدم دون أن يستطيع الدخول الى الخلايا ويرتفع مستواه في الدم ليصل في الحالات الحادة الى اكثر من عشرة أمثاله ويؤدي ذلك للاصابة بمرض Atherosclerosis المؤدي للموت مبكراً .

ويلاحظ من الامثلة و السابقة أهمية الدور الذي تقوم به اللايسوسومات في الافراز وتنظيمه والمشاركة في بناء وأنتاج مركبات بايولوجية مهمة . وتقترن العديد من الامراض خصوصاً الوراثية منها بخلل في وظائفها . أن غياب وجود لايسوسوم يحتوي على أنزيم تحليل معين يؤدي الى إيقاف تمثيل مركبات معينة يعتمد نوعها على الانزيم المفقود ويمكن أن تتضمن المركبات المتراكمة مواداً مثل الجلوكوز آمين جلايكون Glycosaminoglycans (سكريات متعددة مخاطية Mucopolysaceharides) جلايكوبروتينات وجلايكونات ودهون ودهون جلايكونية . يؤدي تراكم هذه المواد الى التداخل مع الفعاليات الايضية الطبيعية الاخرى التي تجري في الخلية مما يؤدي الى ظهور علامات مرضية مميزه .

جاءت معظم معلوماتنا حول الامراض التي تقترن باللايسوسومات ونقص أنزيماتها الهضمية من الابحاث العلمية التي أجريت حول عدد من الامراض التي تسمى جميعها بـ Mucopolysaccharidosis . وخصوصاً مرض هورلر Hurler's disease . تتميز خلايا المصابين بمرض هورلر بوجود فجوات كبيرة معبئة بالسكريات المتعددة المخاطية (الجلوكوز آمين جلايكون Glycosaminoglycans) غير متأيضة وتؤدي هذه الى تشوه في نمو العظام . لوحظ من خلال زراعة خلايا جلدية أو فايبروبلاست مصابة بمرض هورلر مع خلايا طبيعية في مزرعة نسيجية واحدة بأستعادة الخلايا المريضة لطبيعتها وأختفاء الفجوات الكبيرة التي تخزن فيها السكريات المخاطية . وعند أستخلاص الوسط الغذائي لهذه المزرعة المختلطة تم التعرف على وجود أنزيم الايدرونيديز L-iduronidase - الذي يمثل الانزيم المفقود في الخلايا المريضة . ويبدو من ذلك بأن الخلايا الطبيعية تقوم بأفراز هذا الانزيم الى الوسط الغذائي حيث تقوم

عندها الخلايا المريضة بالتهامه من الوسط الغذائي وأستخدامه للتخلص من المواد المتراكمة فيها .

أحد الامراض الوراثية الاخرى التي ترتبط مع اللايسوسومات وأنزيماتها هو مرض خلية I-cell disease I . تتميز الخلايا المصابة بهذا المرض على قدرتها على بناء وأفراز الانزيم Alpha - L-iduronidase ولكنها لا تتمكن من الاستفادة منه حيث تخلو لايسوسوماتها تماماً من هذا الانزيم . كما لا تتمكن نفس الخلايا من استعادة انزيمها المفرز بطريقة الالتهام . لم يعرف في باديء الامر لماذا يحصل ذلك .

لكن وجد بأن الانزيم المفرز من قبل خلايا I لايستطيع الدخول في جميع الخلايا الاخرى حتى الطبيعية منها . فقد مزج هذا الانزيم مع الوسط الغذائي لمزرعة خلايا مصابة بمرض هورلر وكان يفترض بالخلايا المصابة الاستفادة من الانزيم والتخلص من السكريات المخاطية المتراكمة فيها والعودة الى الحالة الطبيعية .

الا انه لم تشاهد أستفادة هذه الخلايا من الانزيم وبقيت الخلايا المصابة بمرض هورلر كما كانت عليه مما يؤكد عدم أستقبال هذه الخلايا الجزيئات الانزيم . ومما عزز هذا الظن أنه عندما أضيف أنزيم Alpha -L-iduronidase المستخلص من وسط غذائي لمزرعة خلايا طبيعية الى مزرعة خلايا مصابة بمرض هورلر عادت هذه الخلايا الى حالتها الطبيعية وتمكن الانزيم من الدخول اليها وتخليصها من المواد المتراكمة .

لقد وجد من خلال مقارنة تحليل تركيب الانزيم Alpha -L-iduronidase الطبيعي مع ذلك المفرز من الخلايا المصابة I-Cells بأن الاخير يفتقد نوع من السكريات القليلة النادرة الذي يحتوي على مانوز – 6 – فوسفات Mannose - 6 - Phosphate والذي يمثل موقع ارتباط هذا الانزيم مع مستقبلاته الغشائية .

لوحظ أيضاً أن خلايا المزارع النسيجية المؤسسة من خلايا مصابة بمرض هورلر تفشل في أدخال جزيئات الانزيم الطبيعي Alpha -L-iduronidase عند أضافته الى وسطها الغذائي المقوي بسكر المانوز 6 – فوسفات . لقد وجد بأن جزيئات سكر

المـــانــوز - 6 - فوسـفات ترتبط مع مـستقـبلات الانزيم بحيث لا تتمكن بعدها جزيئات الانزيم الطبيعي من الارتباط مع هذه المستقبلات مما يؤدي الى فشل الخلايا المصابة بالحصول على الانزيم الضروري لها .

كمـا وجد بأن أضافة سكر المانوز - 6 - فوسـفات الى الوسط الغـذائي لمزارع الخـلايا الطبـيعـية بوجود أنزيم Alpha -L-iduronidase الطبـيـعـي يؤدي أيضـاً الى توقف هذه الخـلايا عن أدخـال جـزيئـات الانزيم ولكنـهـا تعـمـل على بناء الانزيم داخلياً .

وكخلاصة لذلك فأنه يبدو بأن الانزيم L-iduronidase- المفرز من قبل الخلايا المصـابة بمرض I-Cell disease يفتقد الى السكر مانوز - 6 - فوسفـات الذي يمثل موقع تآصر جزيئاته مع مستقبلاتها . لذلك فأن الانزيم لا يمكن الاحتفاظ به داخل الخلايا ولا يمكن أستقباله على سطحها بسبب عدم قدرة جزيئاته على الارتباط مع المستقبلات الداخلية والخارجية .

الاجسام الدقيقة أو البيروكسيمات :

البيروكسي سومات او الاجسام الدقيقة هي تراكيب غشائية دائرية أو بيضوية اكـتـشفت منذ أوائل السـتينات يتـراوح قطرها بين 0.15 - 0.6 مـايكرومـتـر تشـابه اللايـسوسوم الاولي .

تشتق هذه الاجسام من الشـبكة الاندوبلازمية الملسـاء ويتم تعبئتها بأنزيمات الاكسـدة قبل أنفصالها . يتـميز غشـاءها بأن له قابليه نفاذية مميزه بحيث يسمح لجزيئات كثيره اكبر حجماً من جزيئات السكروز بالمرور خلاله بسهولة . يحتوي مركز هذه الاجسام على أنابيب دقيقة مرتبة بصورة منتظمة ويحاط كل منها بعشرة أنيبوبات أدق . قد يحتوي المركز أيضاً على تراكيب بلورية متـميزة أضافة لحشوة سائلة محببة غزيرة بأنزيمات الاكسدة .

يختلف عدد وحجم الاجسام الدقيقة من نوع خلايا الى اخرى ومن عضو الى اخر وتلعب الظروف الغذائية دوراً في ذلك أيضا .

أن اكبر الاجسام الدقيقة حجماً (0.6 مايكروميتر) يوجد في خلايا الكبد والكلية ويعتقد بأن أغلب الخلايا حقيقية النواة تمتلك مثل هذه الاجسام . كما وجد بأن عدد الاجسام الدقيقة التي توجد في خلايا الخميرة المرباة في وسط سكري يكون قليلاً مقارنة مع العدد الكبير لهذه الاجسام في خلايا الخميرة المرباة في وسط غذائي غني بالكحول أو الاحماض الدهنية .

تتشابه الاجسام الدقيقة مع اللايسوسومات في الحجم والشكل لكنهما مختلفتان في التراكيب والوظيفة . أذ ليس للاجسام الدقيقة دور في الهضم ولا تحمل في داخلها أنزيمات هاضمة ويتركز دورها على اكسدة المركبات . لذلك فهي غنية بأنزيمات الاكسدة مثل أنزيم الكاتليز Urate oxidase و Catalase و D-amino acid oxidase (شكل 12 - 3) .

تحتوي اغلب الاجسام الدقيقة على انزيم الكاتيليز الذي يمثل اكثر من 40% من انزيمات الاكسدة وقد تحتوي ايضاً على انزيم اضافي او اكثر . تقوم الاجسام الدقيقة باستخدام الاوكسجين الجزيئي لازالة الهيدروجين من بعض نواتج تحلل المركبات داخل الخلايا وانتاج بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 كخطوة اولى .

شكل 12 - 3 : تخطيط لجسم بيروكسي واخر لايسوسومي ويلاحظ بأن الاختلاف بينهما مظهريا صعب جداً الا من خلال محتوياتها ووجود الانابيب الدقيقة في البيروكسيمات .

$$RH_2 + O_2 \longrightarrow R + H_2O_2$$

وفي الخطوة التالية يستخدم بيروكسيد الهيدروجين لأكسدة أنواع مختلفة من المركبات من ضمنها الفينولات وحامض الفورميك والفورم

الدهايدات والكحولات وأنتاج الماء .

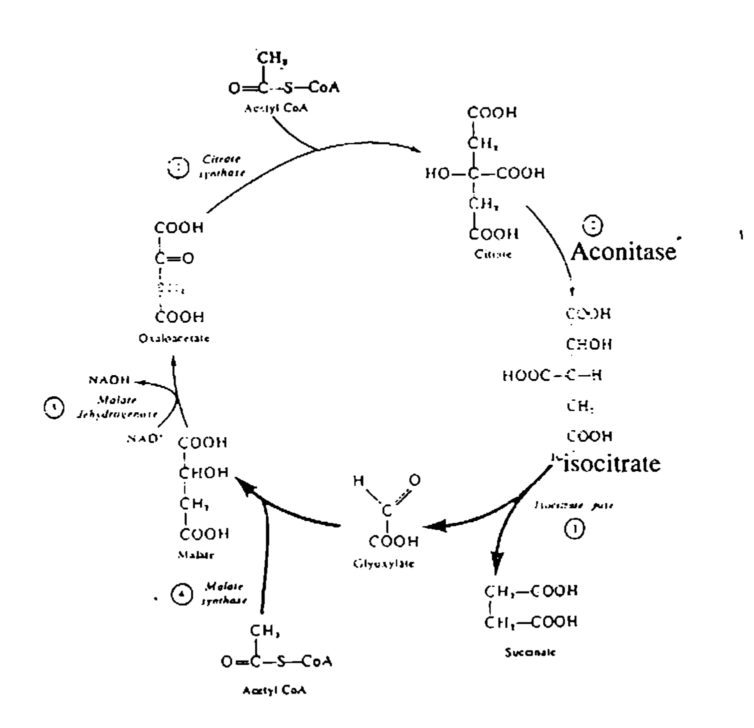
$$H_2O_2 + RH_2 \longrightarrow R + 2\,H_2O$$

كما يستطيع أنزيم الاكسدة كاتيليز تحويل جزيئات بيروكسيد الهيدروجين مباشرة الى ماء عند الحاجة لذلك .

$$H_2O_2 \longrightarrow 2\,H_2O + O_2$$

تعتبر تفاعلات الاكسدة هذه ذات أهمية بالغة في الخلايا حيث يتم اكسدة الاستيل كو أنزيم Acetylco-enzyme A A الناتج من تحطيم حامض البايروفك عن طريق بيروكسيد الهيدروجين وتحويله الى حامض السكسنيك Succinic acid لينتقل الى دورة كربس لاستخلاص الطاقة منه . وعلى الرغم من أهمية هذا التفاعل الا أنه ليس للاجسام الدقيقة دور في أطلاق الطاقة أو أنتاج جزيئات الطاقة ATP .

أما في النبات فقد لوحظ بأن هناك نوعان من الاجسام الدقيقة أحدهما في الاوراق ويساعد في عملية تثبيت ثاني اوكسيد الكاربون لانتاج الكاربوهيدرات خلال عملية التنفس الضوئي Photorespiration والاخر موجود في البذور ويعمل على تحويل الاحماض الدهنية المخزونة الى سكريات ضرورية لنمو الاجنة والبادرات . تسمى الاجسام الدقيقة في البذور بالجلايوكسي سومات Glyoxysomes لدورها الهام في دورة الجلايوكسيليت Glyoxylate cycle . تقوم الاجسام الدقيقة في هذه الدورة بأنتاج جزيئتا أستيل COA من كل حامض دهني وتحويلها الى حامض سكسنيك يغادر الاجسام الدقيقة ليتحول الى جلوكوز في نهاية هذه الدورة . وتعتبر دورة الجلايوكسيليت مميزة للنبات لانها لا تحصل في الخلايا الحيوانية (شكل 12 - 4) .



شكل 12 - 4 : دورة الجلايوكسليت Glyoxylate Cycle التي تتم في أجنة البذور والتي تقوم بها أنزيمات الجلايوكسي سومات .

الفصل الثالث عشر

الليفات والانيبوبات الدقيقة في السايتوبلازم

Cytoplasmic Microfilaments and tubules

مقـــدمة :

يمثل السايتوبلازم الوسط الذي تجري فيه كل معالم الايض التي تترافق مع الحياة . لهذا فهو يمثل مركز نشاط الحياة في الخلية . تختلف طبيعة السايتوبلازم من صورة لزجة هلامية الى سائلة ويساهم وهو في هذه الصورة على حركة العضيات والمواد التي بداخله .

يوضح التحليل الكيميائي للسايتوبلازم على احتواءه على معظم العناصر التكوينية مثل الماء والايونات والغازات الذائبة وجميع اللوازم الخاصة بانظمة الايض مثل الانزيمات وجزيئات الطاقة وغيرها .

أضافة لذلك فان الفحص المجهري للسايتوبلازم يوضح وجود دقائق وحبيبات مخزنة من الجلايكوجين وقطيرات من الدهون . وتلاحظ هذه بشكل واضح من الخلايا الحشوية الكبدية والعضلية . تستخدم طرق كيميائية مختلفة للكشف عن هذه الجزيئات مثل طريقة Periodic - acid Schiff - PAS لصباغة دقائق الجلايكوجين عند الفحص بالمجهر الضوئي وطريقة الصباغة باملاح الرصاص عند الفحص بالمجهر الالكتروني . وتظهر دقائق الجلايكوجين في هذه الاصباغ على هيئة تجمعات صغيرة أو دقائق متفرقة غامقة اللون .

تظهر دقائق الجلايكوجين الصغيرة على هيئة عصوية يتراوح طولها بين 20 - 30 نانوميتر بينما تكون الدقائق الجلايكوجينية الكبيرة (الفا) ذات طول حوالي 150 نانوميتر خشنة المظهر ذات نهايات غير منتظمة .

أما الدهون فتبدو في السايتوبلازم على هيئة قطيرات صغيرة لماعة . كما يمكن ان تكون على هيئة ستيرويدات اولية او قطيرات دهنية مترافقة مع الافرازات في الخلايا الغدية مثل خلايا قشرة الغدد الكظرية والجسم الاصفر في المبايض والانسجة الاخرى الفارزة للستيرويدات . كما يمكن مشاهدتها مترافقة مع دقائق الجلايكوجين في الخلايا الحشوية الكبدية .

يحتوي السايتوبلازم اضافة لما سبق على شبكة دقيقة ومعقدة من الالياف

الدقيقة والانيبوبات تترتب بطرق مختلفة وغير منتظمة تعطي للخلايا شكلها الخاص وتساعد على تدوير المواد داخلها وتوفر دعامة هيكلية ممتازة . اوضحت الفحوصات المجهرية الدقيقة والكيميائية بان هناك نوعين من الاجسام الليفية والانيبوبية هما الليفات الدقيقة Microfilaments والانيبوبات الدقيقة Micro-tubules .

الليفات الدقيقة Microfilaments :

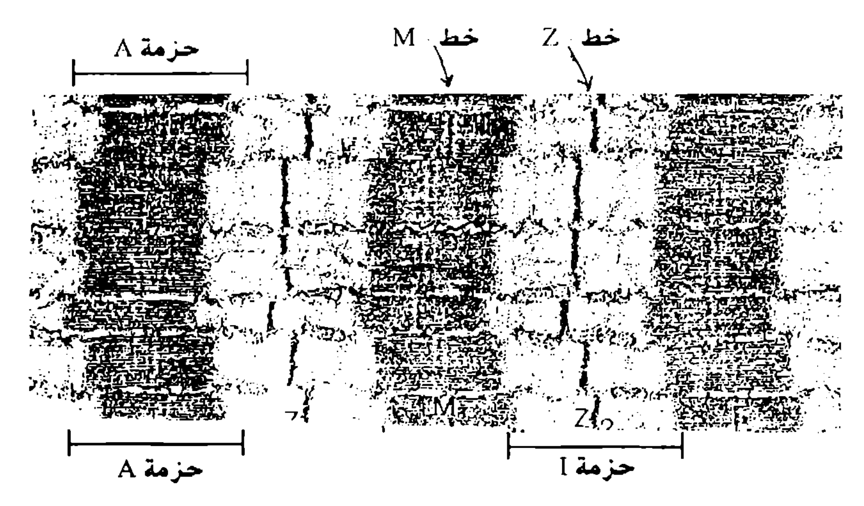
يحتوي معظم سايتوبلازم الخلايا على انواع متعددة من الليفات الدقيقة ذات وظائف مختلفة . وتعتبر الخلايا العضلية وخصوصاً الهيكلية من افضل الخلايا التي درست فيها هذه التركيبات بشكل مفصل ودقيق . تتم الحركة في العضلات الهيكلية عن طريق نسيج متطور هو النسيج العضلي المؤلف من خلايا Sarcomerae تمثل كل منها وحدة تقلصيه تتكرر على طول كل ليف Muscle fiber ويتآزر مع هذا النسيج في أداء الوظيفة النسيج العصبي .

تتألف العضلة الهيكلية من حزم من العضلات يفصل كل منها عن الآخر غمد Perimysum . تتألف كل حزمة عضلية من ليف عضلية متعددة Muscle fiber يفصل كل منها عن الآخر غمد آخر يدعى بغمد الليفة Endo-mysium وتحاط العضلة جميعها بغمد رئيسي هو غمد العضلة Epimysium .

ان فحص الليفة العضلية مجهريا يوضح بانها مخططة بمناطق فاتحة اللون واخرى غامقة . وتتحدد كل وحدة تقلصية (ساركومير) بخطوط تدعى بخطوط Z- لقد وجد بان كل ليفة عضلية مؤلفة من العديد من الليفات العضلية الدقيقة Myofibrils وتتألف هذه من خيوط عضلية دقيقة جداً Myofilaments . أن مقاطع حزم الخيوط العضلية المفحوصة بالمجهر تبين بان هناك نوعين من الخيوط هما خيوط المايوسين Myosin السميكة التي يتراوح عرضها 12 - 15 نانوميتر و 130 نانوميتر طولاً وتمتد في المناطق الغامقة من العضلة التي يرمز لها بالحرف A وخيوط الاكتين Actine الدقيقة الممتدة في المناطق الفاتحة التي

يرمـز لهـا بالحـرف I وقليـلاً في المنطـقـة الغامـقـة (شكل 13 - 1) .

تتألف خيوط المايوسين من سلسلتين من عديد الببتيدات يبلغ الوزن الجزيئي لكل منهما 500,000 وتكون على هيئة عصا الجولف لها رأس يشبه الهراوة . تلتف اذرع كل سلسلة من سلسلتي المايوسين على بعضهما بهيئة الضفيرة بحيث تتجه الرؤوس الهراوية لهما نحو الخارج .



شكل 13 - 1 : صورة مكبرة بالمجهر الالكتروني (X 15000) لعضلة هيكلية يظهر فيها ساركوميرات العضلة (الوحدات العضلية) واضحة .

لقد وجد من معاملة خيوط المايوسين بالانزيمات الهضمية بانها مؤلفة من جزيئتين مايوسينيتين احداهما ثقيلة يبلغ وزنها الجزيئي 180,000 واخـــرى بوزن جزيئي 150,000 تشكلان عناصر خيوط المايوسين . اما خيوط لاكتين فانها مؤلفة من ثلاثة انواع من البـروتينات وهي بروتين الاكـتين الذي يمثل العـمـود الفـقـري للخيوط ويكون على هيئة شريط مزدوج لولبي وبروتين التروبومايسين Tropomycin وبروتين التروبونين Troponin (شكل 13 - 2) .

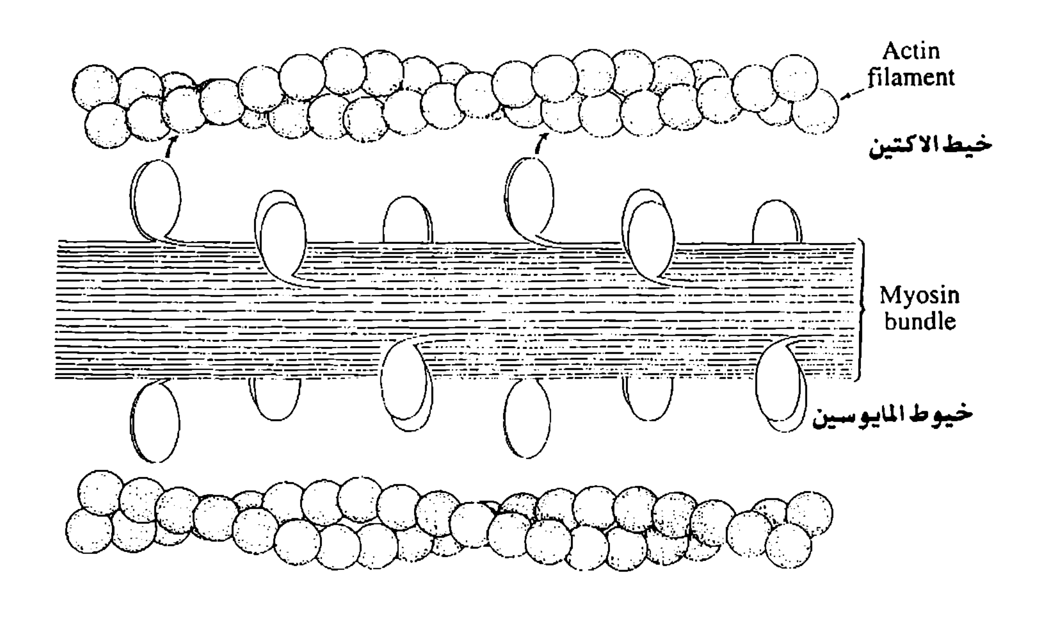
اظهـر التـحليـل الكيـمـيـائـي لسـلاسـل الاكـتـين بـان هنـاك نوعـين مـن البـروتيـنات المؤلفـة لـه وهـي بـروتين الاكـتين F- وبروتين الاكـتين G- . يـؤلـــف

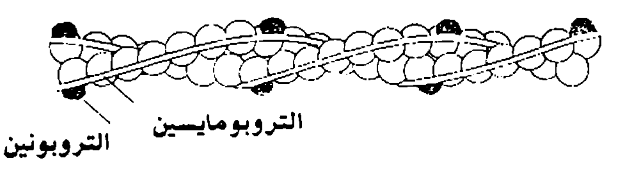
الاكـــتـين -G و F سلسلتـين تلتفـان حـول بعضـهـمـا لتأليـف المـزدوج الـلولبـي للاكتـين .

تنتـظـم بروتينـات خـيـوط الاكـتـين بطريقـة خـاصـة مميـزة حـيـث تحـاط الاشـــرطـة المزدوجـة اللولبـــيـة بسلسلتـين اضـــافـة مـؤلفـة مـن بروتينـات التروبومايسـين ترتبـط سلاسل الاكتين والتروبومايسـين بواسطـة تجمعـات ثلاثـية كـرويـة مـوزعـة علـى طـول السـلاسـل بمسـافـات منتظمـة مـؤلفـة مـن بروتـين التروبونـين .

يتألـف معقـد التروبونـين مـن ثلاثـة انـواع مـن البروتينـات التروبونينيـة وهـي تروبونـين C ذو وزن جـزيئي 18,000 لـه علاقـة بالارتبـاط مـع ايونـات الكالسيـوم وتروبـــونـين I ذو وزن جـــزيئـي 22,000 يعـمـل علـى تحـفـيـز المايوسـين للحركـة واشـغـال موقـعـة التـأصـري في خـيط الاكـتـين وتروبونـين T ذو وزن جـــزيئـي 38,000 غيـر معـروف الوظيفـة تمامـاً الا انـه يعتقـد بانـه مسـؤول عـن الارتـباط مع التروبومايوسـين .

أضافـة للبروتيـنات السابـقـة فـأن الاليـاف العضليـة تحـتـوي علـى بروتيـنات أخرى مثـل بروتـين أكـتين الـفا Alpha - Actin وهـي جزيئـة شـبـيـهـه بالعصـ الصـغـيـرة ذات وزن جزيئي 200,000 تتـركـز فـي خـط -Z وتنتشـر بأنتظـام على طـول الليـفة العـضليـة وكـذلـك بروتين دسـمين Desmin الذي يعـتـقـد بأنـه يؤلـف معظـم بـروتين لييفـات الخـلايا العضليـة الملسـاء . كمـا تحـتـوي مناطـق خـط -M فـي العـضـلات علـى بروتـين غيـر معـروف يسـمـى بـروتـين -M وأخـر يدعـى بروتـــين -C .





شكل 13 - 2 : التركيب الدقيق للخيوط والبروتينات المؤلفة لليف العضلي .

التركيب الدقيق للوحدة التقلصية (الساركومير) :

أن الفحص المجهري لليف العضلي الهيكلي المصبوغ يوضح بأن هناك تخطيطاً يمتد على طول الليف تتعاقب فيه المناطق الغامقة والفاتحة . ويمكن تمييز عدة مناطق في الوحدة العضلية وهي كالتالي :

حزمة A (A-Band) :

تتألف هذه الحزمة من موقعين غامقين يفصلان عن بعضهما بمنطقة أقل تلوناً تدعى بحزمة -H (H-Band) . تحتوي حزمة H في وسطها على منطقة اكثر كثافة تدعى بخط هانسن Hensen's Line او خط -M (M- Line) (شكل 13 - 3) .

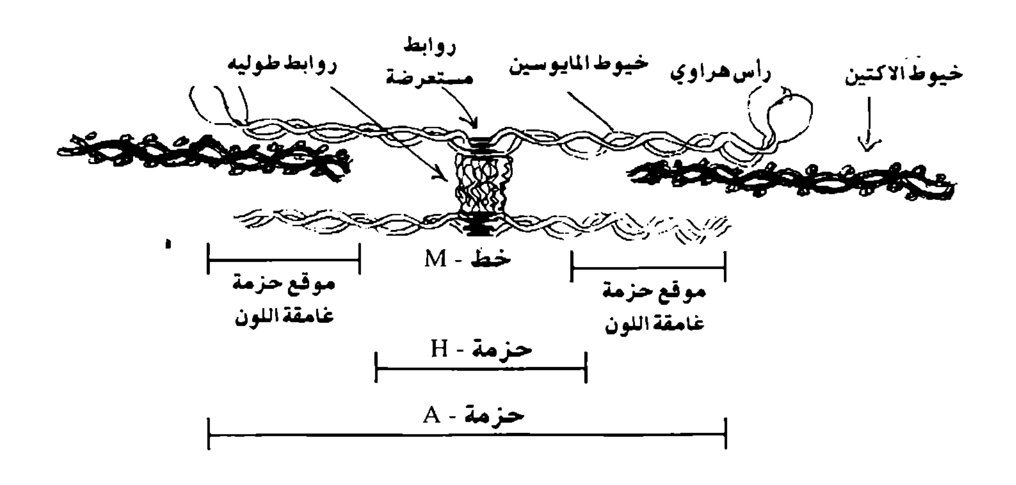
تتألف المناطق الغامقة من حزمة -A مـن رؤوس خيوط المايوسين الصولجانية ونهايات خيوط الاكتين التي ترتبط مع بعضها بألياف مستعرضة تمثل جسوراً ليفية بين المايوسين والاكتين . بينما تتألف حزمة -H الداخلية من اللوالب المزدوجة لمجموعتي خيوط المايوسين فقط .

M - Line
H - Band
A - Band

شكل 13 - 3 : تخطيط لتركيب الحزمة A في الوحدة العضلية .

أما خط -M فيتألف من خيوط دقيقة طولية تمتد قليلاً على جانبي الحزمة -H أضافة لخيوط مستعرضة . تعمل هذه الخيوط على ربط النهايات الحره للوالب المزدوجة لمجموعتي الياف المايوسين (شكل 13 - 4) . ويبدو بأن الياف خط -M ذات أهمية في الحفاظ على سلامة الوحدة العضلية عند الشد حيث تساهم في عدم السماح لها بالشد حد التمزق .

هذا اضافة لدورها في ربط نهايات الياف مجموعتين المايوسين للوحدة العضلية .



شكل 13 - 4 : المكونات الدقيقة لحزمة -A .

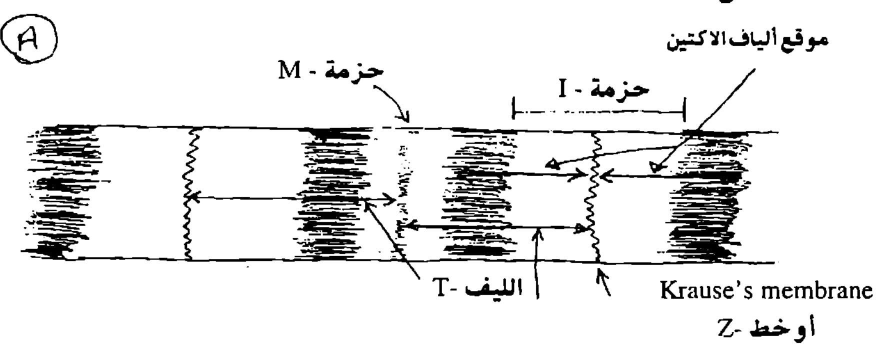
حزمة -I (I-Band) :

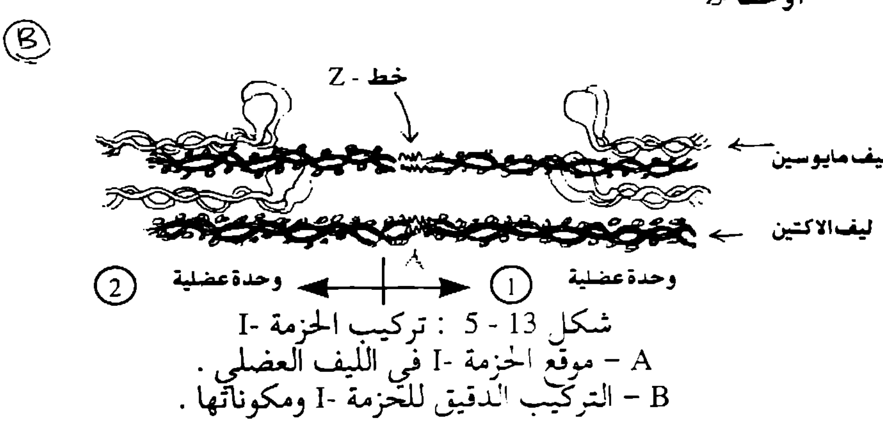
وهي حزمة فاتحة اللون تمتد بين وحدتين عضليتين تُقطَع عرضياً في وسطها بغشاء كراوس أو خط -Z . تتألف حزمة -I من مجموعتين من الياف الاكتين تبدأ كل منهــمــا من خط -Z وتمتـد نحـو الرؤوس الهـراوية لخيـوط المايوسين في المناطق الغامقة لحزمة -A حيث تتداخل معها .

ترتبط نهايات مجموعتي الياف الاكتين مع بعضها عن طريق الياف طولية تمتد قليلاً داخل منطقتي -I للوحدتين العضليتين المتجاورتين .

أضافة لوجود الياف مستعرضة لزيادة الربط وتؤلف هذه خط -Z . ويظهــر في المقاطع العرضية للعضلة مؤلف من رزم مربعة متباينة العرض .

أضافة لخيوط الاكتين فأن هناك الياف مطاطية تدعى بألياف -T T-fibres تمتد من خط -Z نحـو خط -M تساهم في ربط اغشية كراوس المحيطة بالوحدة العضلية مع وسط الوحـدة (وهو خط -M) لزيادة الحفاظ على الوحدات العضلية من التمزق نتيجة الشد (شكل 13 - 5)





شكل 13 - 5 : تركيب الحزمة -I
A – موقع الحزمة -I في الليف العضلي .
B – التركيب الدقيق للحزمة -I ومكوناتها .

آلية الانقباض والانبساط في العضلة الهيكلية :

ان التفاصيل الدقيقة لعملية التداخل بين الياف المايوسين والاكتين لاحداث التقلص والانبساط غير معروفة تماماً . الا ان هانسون وهكسلي Hanson & Huxley وضعا نموذج لتوضيح ذلك . وان معظم تصورنا لآلية الانقباض والانبساط في العضلة الهيكلية يعود الى هذا النموذج .

ان ارتباط اشرطة الاكتين يؤدي الى تكوين انخفاضات وارتفاعات وترتبط خيوط المايوسين بواسطة الرؤوس الهراوية الشكل مع هذه الانخفاضات والارتفاعات اثناء عملية التقلص . واثناء التقلص تدور الرؤوس الهراوية بسرعة بحيث تندفع باتجـــاه خطوط Z مستخدمة الانخفاضات والارتفاعات لخيوط الاكتين بطريقة مشابهة لدخول المسمار اللولبي في اللوح الخشبي . تدور الرؤوس الخاصة بخيوط المايوسين بعد ارتباطها أولاً مع جزيئة ATP (جزيئة لكل رأس) حيث تستمد منها الطاقة محررة جزيئة ADP وتنشط هذه الطاقة الرؤوس لتتصل مع شريط الاكتين المجاور وتنحني 45 درجة . وباستمرار الحصول على طاقة فان الرؤوس تدور بسرعة لتعمل على تقلص العضلة . تسلك الرؤوس الهراوية للمايوسين كأنزيمات اطلاق الطاقـة ATPase حيث تحرر الطاقة عبر تحطيم جزيئة ATP وتحويلها الى ADP ومجموعة فوسفات .

بالاضافة لحركة رؤوس خيوط المايوسين فان اشرطة التروبومايسين وكريات التروبونين لها دور في هذه العملية . اذ ان الاستقطاب الكهربائي الناتج من الايعاز العصبي يؤدي الى تحرر ايونات الكالسيوم وزيادة تركيزها حول الالياف العضلية الى اكثر من 10 مرات وتعمل هذه على الارتباط مع جزيئات التروبونين حيث تتحرر كريات التروبونين وبالتالي اطلاق حرية اشرطة التروبومايوسين لتتمكن من ملامسة خيوط المايوسين . وعند انتهاء الاستقطاب تغادر ايونات الكالسيوم عائدة للشبكة الساركوبلازمية مما يؤدي الى عودة كريات التروبونين وكذلك عودة اشرطة التروبومايوسين في موقعها لتؤدي الى انبساط العضلة .

تخضع اثارة العضلة لحافز عصبي حيث تتغذى كل وحدة في العضلة بواسطة محور عصبي واحد يتفرع عند اتصاله بالليفية العضلية مكوناً التشابك العصبي - العضلي Synaps أو Myoneural junction ويوجد بين التشابك فراغ يتم فيه خزن مادة الاستيل كولين Acetyl choline وتنتشر هذه المادة حال حصول الايعاز العصبي الى الليفة العضلية مؤدية الى حصول الاستقطاب وتحرر أيونات الكالسيوم وحصول التقلص . تستمد العضلات طاقة الانقباض من جزيئات ATP الا ان الطاقة المتحررة من جزيئة ATP لا تكفي الا لتقلص العضلة لجزء من الثانية وعلى ذلك فانه لا بد من وجود مصدر طاقة اكثر نشاطاً لتزويد العضلة . هذا المصدر هو فوسفات الكرياتين Creatin phosphate الذي تتمكن من الاتحاد مع الـ ADP بشكل خزن فوسفات الكرياتين عن طريق اكسدة الكاربوهيدرات المأخوذة من الكلايكوجين المخزون في العضلة . وعلى الرغم من الطاقة التي تتوفر عن هذا الطريق للعضلة الا انها غير كافية للتقلص الشديد بسبب عدم كفاية ورود الدم للعضلة لذلك تلجأ للاكسدة اللاهوائية للكاربوهيدرات لتوفير جزيئات الطاقة اللازمة للتقلص على الرغم من قلة جزيئات الطاقة المتولدة عن هذا الطريق ويتم بالاكسدة اللاهوائية تخليق جزيئات فوسفات الكرياتين وتكوين حامض اللبنيك Lactic acid الذي يعاد تخزينه بهيئة جلايكوجين عند وجود اوكسجين كافٍ .

الالياف العضلية في العضلات الملساء :

تحتوي الخلايا العضلية الملساء على الياف الاكتين والمايوسين ومعقدات التروبومايسين - تروبونين كما هو الحال في خلايا العضلات الهيكلية .

الا ان نسبة المايوسين ومعقدات التروبومايسين - تروبونين قليلة جداً مقارنة بنسبة عالية من الياف الاكتين . كما تختلف طريقة تنظيم هذه الالياف في الخلايا العضلية الملساء عما هو عليه من خلايا العضلات المخططة عموماً . اذ شوهد عند فحص الخلايا العضلية الملساء تحت المجهر الالكتروني وجود مواقع كثيفة تدعى بالاجسام الكثيفة Dense bodies تنتشر داخل الخلية وعلى السطح الداخلي

لغلافها البلازمي تتألف من بروتينات الديسمسن Desmin ذات وزن جـــزيئي 50,000 والفلمين Filamin ذات وزن جزيئي 500,000 وتمثل هذه الاجسام مواقع ارتباط حزم الياف الاكتين داخل الخلايا (شكل 13 - 6) .

تتداخل الياف المايوسين ومعقدات التروبومايسين القليلة مع حزم الياف الاكتين بينما تنغرز الياف اخرى تدعى بالخيوط الوسطية Intrmediate Filaments في الغشاء البلازمي وتمتد على سطحه الداخلي لزيادة مطاطية الغشاء وتقدي الاسناد العضلي له عند التقلص للحفاظ عليه من التمزق .

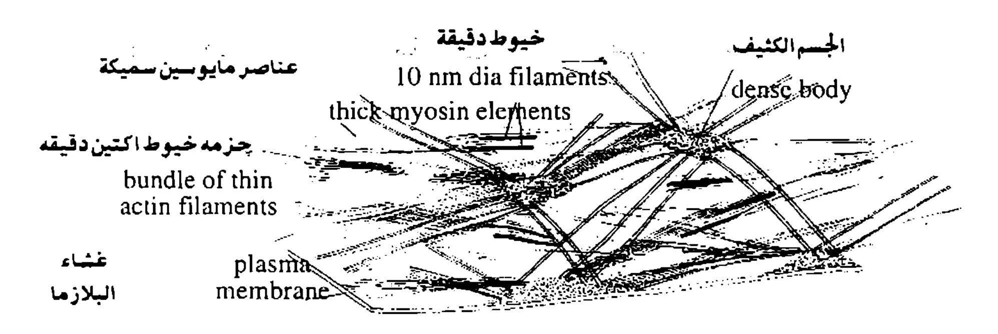
ويلاحظ من هذا الترتيب غياب التخطيط الذي يشاهد عادة في خلاي العضلات الهيكلية والقلبية ويحل بدلاً عنه التنظيم الشبكي المحيطي والطولي . تتقلص الياف الخلايا العضلية الملساء اعتماداً على الحوافز العصبية ووجود آيونات الكالسيوم . ترتبط ايونات الكالسيوم بعد تحررها من الشبكة الساركوبلازمية مع الياف المايوسين . وقد وجد بانها تعمل على احداث تغيرات في جزيئات المايوسين بحيث تتحول الرؤوس الهراوية لها الى انزيمات اطلاق الطاقة ATPase . ولا تختلف الية التقلص في هذه الخلايا كثيراً عن الالية التي سبق الحديث عنها في الخلاي الهيكلية . وقد توجد انظمة اخرى تعمل على تنظيم عملية التقلص والانبساط للالياف لم تكتشف بعد .

الالياف العضلية في الخلايا الاخرى :

تترافق العديد من الفعاليات الايضية لكثير من الخلايا غير العضلية بمظاهر شبيهه بالتقلصات مثل حركة العضيات داخل السايتوبلازم وتكوين الاقدام الالتهامية وحركة الخلايا وحركة الاجزاء الخلوية أثناء الانقسامات وتغيير شكل الخلية وغير ذلك .

لقد بينت الفحوصات السايتوكيميائية - المناعية وفحوصات المجهر الالكتروني وجود الياف دقيقة اكتينية في الغالب تنتظم باشكال مختلفة داخل الخلاي وخصوصاً بالقرب من الاغشية البلازمية ويغلب على هذه الاشكال التنظيم

الشبكي الرخو والحزمة الاشعاعية . كما توجد بروتينات ليفية اخرى في بعض الخلايا مثل بروتين السبكترين Spectrin الذي يؤلف نسبة عالية من بروتينات غشاء خلايا الدم الحمراء .



شكل 13 - 6 : تنظيم الخيوط العضلية في العضلات الملساء .

تتميز بعض الخلايا وخصوصاً تلك التي تتمكن من العيش في المزارع النسيجية باحتوائها على حزم من الالياف الاكتينية الدقيقة وتظهر عند الفحص كحزم مخططة تمتد خارج الاغشية الخلوية . تدعى مثل هذه الحزم بحزم الشد Stress او الياف الغلاف Sheath fibres .

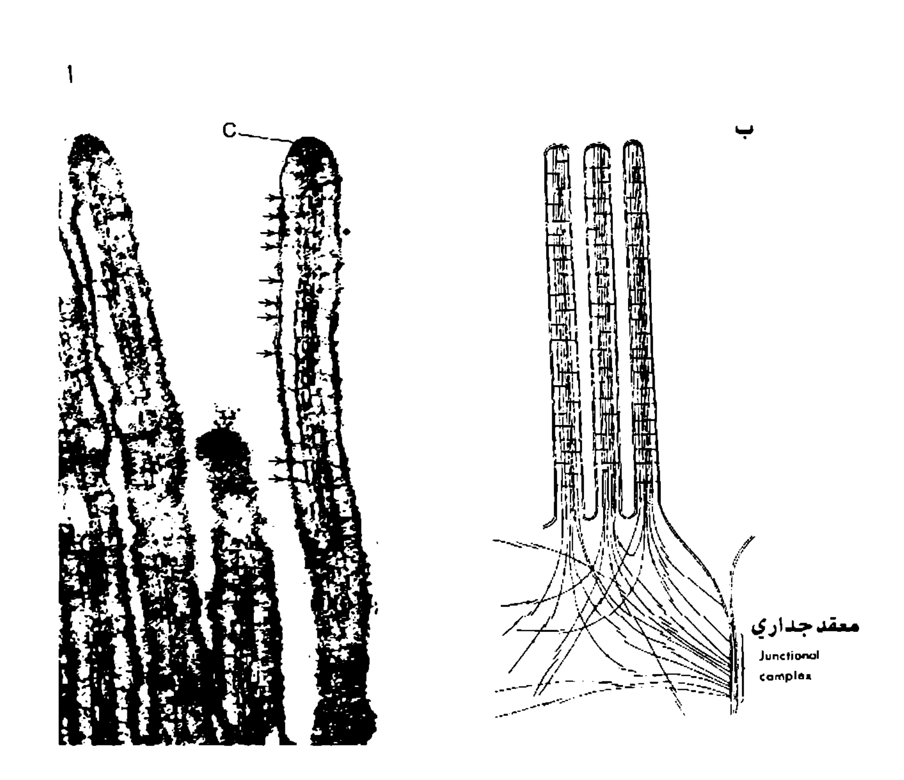
تساهم هذه الالياف كثيراً في مساعدة هذه الخلايا على الحركة على سطح اناء المزرعة حيث تترتب هذه الالياف بشكل موازي لاتجاه الحركة .

تتقلص الزغابات المعوية وتتمدد اعتماداً على الحالة الفسلجية للامعاء . تتم عملية التقلص والتمدد هذه عن طريقة شبكة من الالياف المولفة من الاكتين والمايوسين حيث تمتد حزم الالياف داخل الزغابات بشكل طولي وترتبط عرضياً مع الغشاء البلازمي بالياف مستعرضة . اما في قاعدة الزغابات فان حزم الالياف تشكل شبكة رخوة ترتبط اليافها مع معقدات جدارية Junctional Complexes تساهم في تقلص الالياف وتمددها (شكل 13 - 7) .

اما في جسم الخلايا الظلائية فتوجد حزم من الالياف الاكتينية التي تمتد عبر فراغات الدسموسومات بين الخلايا المتجاورة لتساهم في زيادة الارتباط

الخلوي . كما قد تساهم في عملية حركة المواد بين هذه الخلايا .

كما تمتد الالياف الاكتينية في الخلايا العصبية على هيئة حزم طولية تدعى الخيوط العصبية Neurofilament تمتد من جسم الخلايا وعلى طول الليف العصبي اضافة لامتدادها من العقد العصبية نحو الانسجة الاخرى .



شكل 13 - 7 : صورة بالمجهر الالكتروني لعدد من الزغابات المعوية

(أ) موضحاً فيها الالياف الطولية والمستعرضة التي تخترق الجزء الداخلي من الزغابات .

(ب) تخطيط أفتراضي لتوزيع وتنظيم الالياف في الزغابات المعوية .

الانيبوبات الدقيقة Microtubules :

وهي عناصر غير غشائية طويلة غير متفرعة أنبوبية ذات قطر حوالي 30 نانوميتر تنتشر في جميع انواع الخلايا . توجد الانيبوبات الدقيقة اما على صورة منظمة جداً كما هو الحال في قاعدة الاهداب Axonemc والمريكزات او الاجسام المركزية -Cen trioles او تنتشر في السايتوبلازم بالقرب من بعض العضيات السايتوبلازمية وفي محاور وتشعبات الخلايا العصبية المؤلفة للجهاز العصبي المركزي . كما توجد بالقرب من الاغشية البلازمية وخصوصاً مناطق التبادل الخلوي .

توضح المقاطع العرضية لنماذج الخلايا بأن كل انيبوب دقيق مؤلف من ثلاثة عشر تحت وحدة بروتينية تدعى بالتيوبيولين Tubulin ذات وزن جزيئي 120,000 لكل منها . لقد بينت الفحوصات الكيميائية لهذه التحت وحدات بأنها مؤلفة من نوعين من البروتينات الانيبوبية هما الفا وبيتا .

تتكون الانيبوبات الدقيقة في الخلايا عن طريق البلمرة الذاتية لبروتينات التيوبيولين . كما يمكن ان تختفي من الخلايا عن طريق حل نفسها بأزالة البلمرة عن تحت وحداتها وتفكيك مكوناتها .

تؤلف الانيبوبات الدقيقة الهيكل الرئيسي للاهداب والاسواط حيث تترتب بطريقة مميزة مكونة تسعة أنابيب مزدوجة محيطية تحيط بزوج مركزي وتمتد هذه الازواج الانبوبية على طول الاهداب ابتدأً من قاعدتها . لقد تم دراسة تنظيم الانيبوبات الدقيقة في الاهداب بشكل مفصل وقد وجد بأن في كل زوج أنيبوبي هناك أنيبوب كامل القطر مؤلف من ثلاثة عشر تحت وحده بروتينية تسمى Subfiber - A ترتبط مع أنيبوب غير مكتمل القطر يتألف من أحدى عشر تحت وحدة بروتينية تسمى Subfibre - B . تمتد من الانيبوبات الكاملة القطر زوائد زوجية تتجه نحو الانيبوبات غير مكتمل القطر . تتألف هذه الزوائد من عدة جزيئات من بروتين الداينين Dynein ذو نشاط أنزيمي لتوليد الطاقة ATPase .

ترتبط أزواج الانيبوبات الدقيقة المؤلفة لهيكل الهدب محيطياً بزوائد

تـدعـى Linkes وترتبط شعاعياً مع زوج الانيبوبات المركزية بروابط أضافية تدعى Spokes عددها تسعة روابط . أضافة للروابط الشعاعية ترتبط الانيبوبات المركزية برابطة دائرية تسمى بالغلاف المركزي Centeral Sheath (شكل 13 - 8) .

تمتد الروابط والسبوكات والغلاف المركزي على طول الانيبوبات المؤلفة لهيكل الهدب . يعتقد بأن لزوج الانيبوبات المركزية دوراً مهماً في حركة الهدب حيث تختفي هذه الانيبوبات في الاهداب التي لا تستخدم في الحركة . لا يعرف الكثير حول دور الانيبوبات في حركة الاهداب الا انه يعتقد بأن الاهداب تحتاج الى الطاقة التي يتم توليدها بأستخدام نشاط ATPase لبروتين الداينين والى ايونات الكالسيوم . ويعتقد بأن الانيبوبات الدقيقة تمتلك مرونة كافية بحيث تستجيب للطاقة المتولدة مع التداخل الايوني وبمساعدة الغشاء البلازمي لاحداث الحركة .

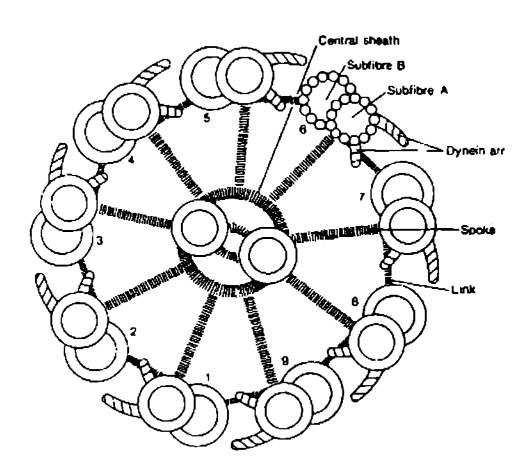
أضافة لوجود الانيبوبات الدقيقة في الاهداب فأنها تؤلف العناصر اللازمة للمغزل الانقسامي Mitotic spindle حيث تتولد في منطقة المريكزات او الاجسام المركزية لتكوين الاقطاب الانقسامية . ولا تلبث هذه الانيبوبات ان تمتد لترتبط مع كرومايتدات الكروموسومات او عابرة منتصف الخلية بأتجاه الاقطاب .

لقد وجد بأن المواد الكيميائية الموقفة للانقسام الخلوي مثل مادة الكولجسين Colchicine تتداخل مع بروتينات التيوبولين في الاقطاب مما يؤدي الى تدمير الانيبوبات الدقيقة للمغزل وإيقاف الانقسام الخلوي .

يتحدد موقع مغازل الانقسام الخلوي بواسطة زوج من التراكيب الانيبوبية الدقيقة المسماة بالمريكزات Centerioles التي تظهر في موقع سايتوبلازمي مميز يدعى Cytocentrum بالقرب من النواة وجهاز كولجي .

يتألف كل مريكز من تسعة تجمعات ثلاثية من الانيبوبات الدقيقة تشكل دائرة . تترتب هذه التجمعات بشكل منحرف على بعضها ولا تظهر تراكيب أضافية في مركزها بأستثناء شريط قصير للDNA (شكل 13 - 9)

في بداية الانقسام الخلوي تبتعد المريكزات عن بعضها وتتحرك نحو أقطاب المغزل وعند حركتها تتولد العديد من الانيبوبات الدقيقة التي تربط المريكزات مع بعضها وتمتد بأبتعاد المريكزات نحو الاقطاب .



شكل 13 - 8 : تخطيط لمقطع عرضي في قاعدة هدب موضحاً فيه التركيب الدقيق له .

وبعد اختفاء غشاء النواة وتكثف الكروموسومات تتولد أعداد أخرى من الانيبوبات الدقيقة التي تؤلف الياف المغزل يرتبط بعضها مع كروماتيدات الكروموسومات وفي مواقع أرتباط هذه الكروماتيدات Kinetochores أو Centromeres . ويبدو بأن للانيبوبات الدقيقة التي تؤلف الياف المغزل أهمية كبيرة في فصل كروميدات الكروموسومات عن بعضها وسحبها نحو أقطاب الخلية .

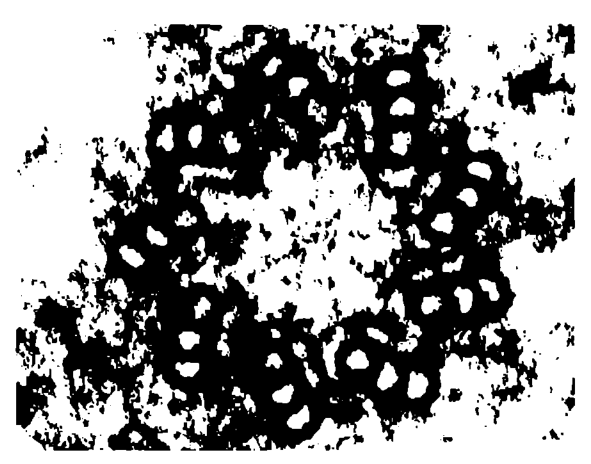
وظائف الانيبوبات الدقيقة :

1 - نظراً لانتشارها في معظم الخلايا لذلك فأن لها دوراً في توفير الدعامة الهيكلية التي تعطي الخلايا شكلها المعروف (شكل 13 - 10) .

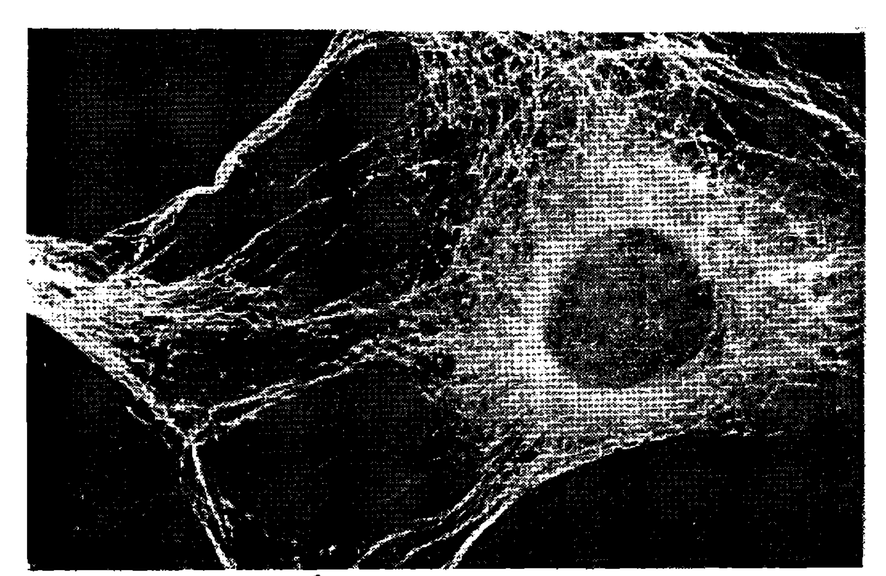
2 - بسبب وجودها بالقرب من الغشاء البلازمي فأنها توفر مطاطية تساعد غشاء البلازما على مقاومة الشد الناتج عن الضغط الازموزي لمكونات الخلية الداخلي وربما تساعده أيضاً في تنظيم حركة المواد .

3 - لها أهمية بالغة في حركة بعض الخلايا بسبب تأليفها لمحتوى الاهداب والاسواط المستخدمة - كما أنها تمثل وسائل الحركة للخلايا النامية في المزارع النسيجية .

4 - لها دور كبير في الانقسام الخلوي حيث تمثل الانيبوبات الدقيقة أقطاب الانقسام والمغزل واليافه . وتساهم كثيراً في فصل كروماتيدات الكروموسومات لأنجاز الانقسام وأتمامه .



شكل 13 - 9 : صورة بالمجهر الالكتروني (X300,000) لمقطع عرضي في أحد المريكزات Centeriole ويلاحظ التجمعات الثلاثية التسعة المؤلفة له .



شكل 13 - 10 : صورة مجهرية لخلية حيوانية موضحاً فيها التوزيع الشبكي المعقد للانيبوبات الدقيقة التي تساهم في أعطاء الخلية شكلها .

الفصل الرابع عشر

الانقسامات الخلوية

Cell Divisions

مقـــدمة :

تشترك العديد من العوامل والظروف في اندفاع الخلايا نحو الانقسام الخلوي . بعض هذه العوامل والظروف تم تحديدها ولا يزال الغموض يلف الاسباب الاخرى التي لها علاقة بالانقسام الخلوي .

فالهرم والشيخوخة وزيادة مساحة السايتوبلازم الخلوي ووجود انواع من البروتينات المحفزة (مثل بروتين P53) وزيادة النفوذية الايونية وارتفاع الجهد الكهربائي الخلوي وجد بان لها دوراً في عملية الانقسام ولكن لا يعرف بالضبط مالذي يدفع الخلية الى الانقسام بالصورة التي حدث . ولا بالالية التي تحكم تسلسل وقوع احداث الانقسام الخلوي .

دورة الخلية Cell Cycle :

تمر الخلية بعدة مراحل يبدأ اولها قبل الانقسام وتدعى مرحلة G1 حيث تعمل الخلية خلال هذه المرحلة على تهيئة نفسها للانقسام فتزداد كمية المواد البروتينية ويزداد تركيز الحامض النووي الريبوزي وتستغر ق هذه المرحلة من ساعة الى عدة ساعات اعتماداً على نوع الخلية وظروفها الفسلجية .

في المرحلة التالية وهي مرحلة -S تعمل الخلية على تضاعف مادتها الوراثيـــة DNA وتبدأ الكروموسومات في الظهور والوضوح وتستمر هذه المرحلة حوالي 8 ساعات تظهر الكروموسومات في نهاية هذه المرحلة مؤلفة من ازواج من الكروماتيدات . تكمن الخلية بعد هذه المرحلة لفترة قصيرة تتراوح ما بين 2 - 5 ساعة تدعى هذه المرحلة بمرحلة G2 تدخل بعدها الخلية مرحلة الانقسام المايتوي -M (شكل 14 - 1) ويليه انقسام السايتوبلازم وانفصال الخلايا المنقسمة عن بعضها (مرحلة -C) .

الاحداث الدقيقة التي تحصل في الانقسام الخلوي :

يترافق انقسام الخلايا بالعديد من الاحداث الخلوية التي تساهم في تطور

الانقسام والسير به بالطريق الطبيعي . وقد وجد بان مساهمة كل من هذه الاحداث السايتولوجية متكاملة ويؤدي تعثر احداها الى تعثر عملية الانقسام برمتها .

ظهور الكروموسومات :

ان الفحوصات المجهرية للخلايا قبل الانقسامية توضح خلو النواة من أية تركيبات خيطية يمكن ان تدل على وجود الكروموسومات . الا ان هذه الفحوصات وكما اسلفنا سابقاً توضح توزيعاً خاصاً للكروماتين داخل النواة . وقد تبين فيما بعد أن الكروماتين هو في حقيقة الامر الالتفاف الدقيق للكروموسومات غير المنظورة تحت المجهر الضوئي .

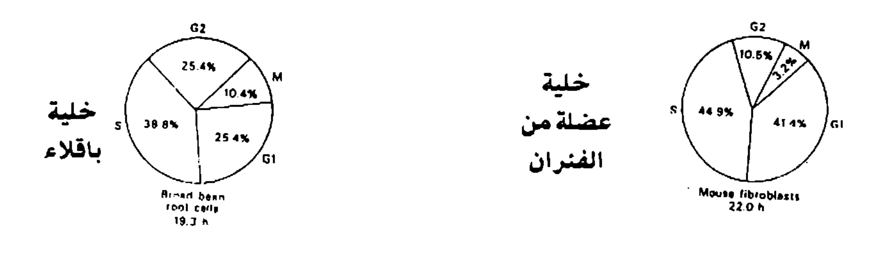
تظهر الكروموسومات في المرحلة الاولى للانقسام كخيوط رفيعة جداً تتعاقب على بعضها البعض مؤلفة شبكة كروماتينية . وتظهر الكروموسومات في هذه المرحلة مؤلفة من خيوط رفيعة طويلة جداً تحتوي على مواقع اكثر كثافة بحيث تبدو الكروموسومات وكانها مسبحة ذات حبات دقيقة تنتشر على طولها .

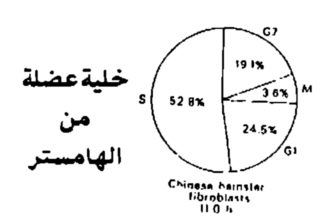
بعد تضاعف الحامض النووي DNA تتغلظ الكروموسومات وتقصر وتبدو اكثر وضوحاً ويتألف كل منها من زوج من الكروماتيدات المرتبطة مع بعضها عن طريق السنتروميتر .

تظهر الكروموسومات في افضل صورها التفصيلية واكثر وضوحاً وهي في الطور الاستوائي حيث تصطف عند استواء الخلية على هيئة أزواج ويمكن بالفحص المجهري العادي رؤية تفاصيلها الدقيقة . وبعد الانتهاء من الانقسام الخلوي تعود الكروموسومات تدريجياً الى حالتها الاولى حيث تبدأ بالضعف والطول وتتشابك مع بعضها مؤلفة شبكة الكروماتين التي تختفي حال انتهاء الانقسام ولا يمكن رؤية الكروموسومات بعد ذلك الا في المرحلة الانقسامية التالية .

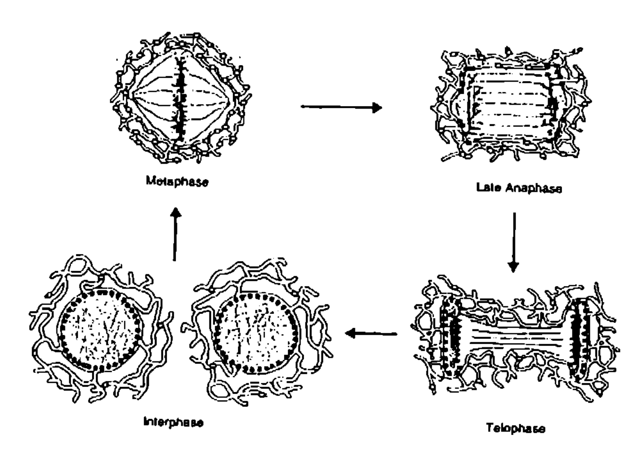
اختفاء الغلاف النووي :

يبدأ الغلاف النووي بالتحلل والاختفاء مع بداية الطور التمهيدي . لقد بينت الفحوصات المجهرية التي اجريت على الغلاف النووي في هذا الطور بان هناك ترابطاً وتماساً بين الانيبوبات المؤلفة لاشعة المغزل مع السطح الخارجي للغلاف النووي . لا تلبث اشعة المغزل بان تخترق الغلاف النووي من مواقع متعددة مؤدية الى التحام الاغشية المولفة للغلاف النووي ويتألف نتيجة لذلك العديد من الاشكال الحويصيلية المختلفة الحجم والتي تتبدد في السايتوبلازم . كما يتحلل بعضها بينما تضمحل خويصلات اخرى ولا يعرف اين تذهب اجزاء الغلاف النووي الا انه يعتقد بانها تلتحم ربما مع الشبكة الاندوبلازمية الخشنة المجاورة او مع اغشية جهاز كولجي . وفي نهاية الغلاف النووي تتحرر الكروموسومات من النواة .





شكل 14 - 1 : دورة الخلية لثلاثة أنواع من الخلايا
ويلاحظ أختلاف فترة مراحل كل دورة .



شكل 14 - 2 : نموذج مقترح من الينبرغ وجماعته حول دور الشبكة الاندوبلازمية في إعادة بناء الغلاف النووي بعد الانتهاء من الانقسام .

أما بعد الانتهاء من الانقسام فانه يعاد بناء الغلاف النووي مرة اخرى حيث لوحظ احاطة كروموسومات الاطوار المتقدمة باغشية مزدوجة مشابهة لتركيب الغلاف النووي ولا تلبث هذه ان تلتحم مع بعضها مؤلفة الحدود الخارجية للنواة ثم تنفصل الاجزاء الملتحمة عن الكروموسومات مكونة الغلاف النووي .

ولا يعرف لحد الان المنشأ الحقيقي للاغشية المزدوجة التي تحيط بالكروموسومات في الاطوار المتقدمة من الانقسام والتي ينشأ منها الغلاف النووي الا انه يعتقد بانها تشتق من الشبكة الاندوبلازمية وقد يكون للكروموسومات دور ما في ذلك (شكل 14 - 2) .

ظهور المريكزات الانقسامية :

تتموضع مريكزات الخلية في منطقة كثيفة مميزة تقع بالقرب من النواة ويطلق على مكوناته بالجسم المركزي Centrosome . يتألف الجسم المركزي من جسمين دقيقين يعرفات بالمريكزان . يتكون كل منهما من جسمين اسطوانيين طويلين قطر كل منهما 150 - 160 نانوميتر وطول كل منهما 300 - 500 نانوميتر وجسمين اسطوانيين قصيرين بقطر 150نانوميتر وطول 70 نانوميتر يدعيان بالمريكزات البنوية Daughter centerioles يتعامدان تقريباً مع المريكزات الطويلة

التي تـدعى بالابويـة احياناً .

يتألف المريكز كما سبق او ذكرنا من تسعة تجمعات ثلاثية من الانيبوبات الدقيقة التي تترتب بطريقة منحرفة على بعضها . يحتوي المريكز من الداخل على مادة كثيفة تمثل لب المريكز تحتوي على شريط متحلزن من الحامض النووي DNA .

تتضاعف المريكزات في الطور البيني حيث ينمو المريكزان البنويات الى حجم مساوي لحجم وطول المريكزات الابوية ثم تنفصل ازواج المريكزات متجهة نحو اقطاب الخلية ومولدة بنفس الوقت اعداد مختلفة من الانيبوبات الليفية للاشعة المركزية التي تؤلف مغزل الانقسام .

يؤدي انتهاء الانقسام الى حصول كل من الخلايا الجديدة على زوج من المريكزات ولا تلبث هذه ان تولد مريكزات بنوية لها . لا يعرف بالضبط كيف يتم بناء المريكزات البنوية الا انه يعتقد بان النشاط الخاص بتوليد الانيبوبات الدقيقة اللازمة لبناء المغزل الانقسامي الذي تقوم به المريكزات الابوية هو الطريقة التي يتم فيها بناء المريكزات الاضافية وقد يترافق هذا مع تضاعف للحامض النووي DNA لتوفير الاشرطة النووية اللازمة للمريكزات الجديدة .

بناء المغزل والاشعة المغزلية :

تحدد اقطاب المغزل بالاجسام المريكزية المؤلفة من المريكزات ويشغل كل جسم مركزي موقعاً قطبياً حول موقع النواة .

تنشأ الاشعة المغزلية من مريكزات الاجسام المركزية حيث تنمو انيبوبات دقيقة متعددة من مواقع مختلفة من المريكزات وتمتد هذه الانيبوبات على هيئة شعاعية ومن كلا القطبين . لا يعرف كيف تنشأ الانيبوبات المؤلفة للاشعة المغزلية ولكنه يعتقد بانها تنشأ من مونوميرات بروتينية تبنى على الاغلب في موقع المريكزات لوجود احماض نووية ريبوزية RNA وديوكسي ريبوزية DNA واعداد كبيرة من الريبوسومات وخصوصاً بين الانيبوبات الدقيقة .

تمتد الانيبوبات الدقيقة من المريكزات على هيئة مفردة او بشكل حزم وتبدأ ظهورها عند تحرك المريكزات باتجاه الاقطاب (مرحلة G1) . وبعد استقرار المريكزات في اقطاب الخلية تكون الاشعة المغزلية قد اكتملت ويظهر المغزل في هذه المرحلة مؤلفاً من اعداد كبيرة من الانيبوبات الدقيقة التي تشكل الاشعة المغزلية . يمتد بعضها بين القطبين دون ان يرتبط مع الكروموسومات بينما يرتبط جزء منها في مواقع السنتروميترات الكروموسومية . كما يمتد بعضها الى موقع يتجاوز منتصف المغزل ولكنه لا يصل الى القطب المقابل . ترتبط الياف المغزل ارتباط مباشر او غير مباشر مع مواقع محددة على الكروموسومات تدعى بالمراكز الحركية Kinetochores تتمركز غالباً في مواقع السنتروميرات .

تظهر هذه المراكز تحت المجهر الالكتروني بانها مؤلفة من شكل قرصي ليفي تبرز منه عدد من الانيبوبات الدقيقة التي تخترقه نحو الياف الكروموسومات .

في بعض الحشرات المائية كاليعسوب فان الياف المغزل ترتبط في مواقع مختلفة على طول الكروموسومات بسبب وجود مراكز حركية متعددة منتشرة على طول الكروموسومات .

يختلف توزيع انيبوبات الاشعة المغزلية في موقع الانقسام . اذ يزداد عدد الانيبوبات في مركز المغزل وتشكل في هذه المنطقة حزماً مرتبطة مع بعضها بجسور مستعرضة . تظهر الانيبوبات الدقيقة اكثر كثافة في محور المغزل وخصوصاً في الطور الاستوائي . حيث يبلغ عدد الانيبوبات الكلي في موقع المغزل حوالي 1700 يتركز معظمها في موقع محور المغزل بينما ينخفض هذا العدد في الطور الانفصالي ليصل الى حوالي 700 .

كما يبدو بان بعض الانيبوبات الدقيقة تمتد من الكروموسومات باتجاه الاقطاب المغزلية . ويظهر واضحاً دور الكروموسومات في توليد انيبوبات المغزل في انقسام الابتدائيات اذ ينعدم وجود المريكزات في هذه الاحياء . كذلك فانه لا يظهر في انقسامها شكل نجمي يمثل المغزل واجزاءه وتظهر الكروموسومات مرتبطة

بحزم من الياف المغزل ارتباطاً مباشراً وتشكل الانيبوبات الدقيقة المؤلفة للمغزل شكلاً اسطوانياً بدلاً من الشكل المخروطي المعروف في معظم الانقسامات الخلوية .

في المرحلة الانفصالية يحصل تقلص في طول الاشعة المغزلية ويؤدي ذلك الى سحب الكروموسومات نحو اقطاب الخلية .

ان عملية تقلص الياف المغزل غير معروفة تماماً الا انه يعتقد بان ما يحصل للالياف المغزلية مماثل لما يحصل في تقلص الخيوط العضلية حيث تتقلص الياف المغزل نتيجة وجود الجسور المستعرضة ربما تكون مؤلفة من بروتين الداينين الذي يعمل كانزيم اطلاق طاقة ATPase وان لها دوراً في تزويد الياف المغزل بالطاقة اللازمة للتقلص والانزلاق على بعضها . كما يفسر البعض التقلص الحاصل في الياف المغزل الى تحللها الى مونوميترات في مواقع ارتباطها القطبي مما يؤدي الى تقلصها .

المعقد التشابكي Synaptinemal Complex :

تظهر المعقدات التشابكية في الدور الازدواجي Diplotene من الانقسام الاختزالي الاول Miosis I حيث ترتبط كروماتيدات الكروموسومات القرينة التي يحدث بينها العبور Crossing over بمعقدات تشابكية في مواقع تدعى بالكيازما Chiasmata . تتألف المعقدات التشابكية من حبيبات وخيوط بروتينية طولية ومستعرضة وتمتد الياف من الكروموسومات في هذا الموقع على هيئة كتل جانبية وتظهر مناطق المعقدات داكنة اللون عند الاصطباغ .

ويبدو بان هذه المعقدات تبدأ بالظهور في مراحل سابقة ولكنها تصبح متكاملة وفعالة عند تجاوز الكروماتيدات القرينة في الدور الازدواجي .

لا يعرف التركيب الدقيق للمعقدات التشابكية ولكنه افترض انها مؤلفة من جزيئات بروتينية مونوميرية تنتظم بطريقة تشبه تداخل اصابع اليدين مع بعضها .

أنقسام السايتوبلازم Cytokinesis :

يعتبر الانقسام السايتوبلازمي المرحلة النهائية التي تسبق أنفصال الخلايا البنوية الناتجة عن الانقسام الخلوي . ولكنه يبدأ في حقيقة الامر ما بين الطور النهائي والانفصالي .

يترافق انقسام السايتوبلازم مع استطالة الخلية وظهور أخاديد جانبية تنشأ من طيات الغشاء البلازمي نحو الداخل بصورة قائمة على محور المغزل عند الاستواء . تتحدد هذه الاخاديد قبل الطور الاستوائي وليس للمغزل او الصبغيات دور في تكوينها حيث لا يتغير موقع الاخاديد عند تغيير موقع المغزل بالطرد المركزي . كما يستمر تعمق الاخاديد واستمرار انقسام السايتوبلازم حتى عند أزالة المغزل . الا انه يعتقد بان للمريكزات دور ما في ذلك وخصوصاً بأن هناك زيادة في عدد الانيبوبات الدقيقة في خط الاستواء يترافق مع ظهور الاخاديد .

تتعمق أخاديد الانقسام السايتوبلازمي بتقدم الانقسام الخلوي وتظهر أضافة للطيات الغشائية فقاعات غشائية مجاورة للاخاديد ويعتقد بانها تعمل على الالتحام مع الغشاء البلازمي في موقع الاخاديد لزيادة مساحته السطحية بحيث يؤدي ذلك بأستمرار الى تعميق الاخاديد الجانبية ويساعدها على الاقتراب من بعضها .

يترافق تعمق الاخاديد الجانبية مع تحول السايتوبلازم في المنطقة الاستوائية الى مادة هلامية تساعد على جذب نهايات الاخاديد نحو بعضها حتى ينتهي الانقسام بتكوين جدار فاصل كامل نتيجة التحام نهايات الاخاديد مع بعضها .

يختلف حجم الخلايا البنوية الناتجة عن الانقسام أعتماداً على كمية السايتوبلازم التي تحصل عليه قبل الانفصال ولايعرف السبب في أختلاف هذه الكمية .

الانقسام غير المباشر Mitosis :

يحدث هذا النوع من الانقسام في الخلايا الجسمية ويؤدي الى تكوين خليتين

من كل خلية منقسمة تحتوي كل منهما على نفس عدد كروموسومات الخلية المنقسمة الامية (شكل 14 - 3) .

قبل أنقسام الخلية تبدأ مرحلة التحضير للانقسام من خلال تهيئة المواد اللازمة للعملية ومن ضمن ذلك تضاعفت المادة الوراثية . وتبدو الخلية في هذه المرحلة ساكنة وتحتوي على جميع العضيات الداخلية كما هي في جميع الخلايا وتسمى هذه المرحلة بالدور البيني بعدها تبدأ الخلية بالدخول في مراحل متميزة هي :

المرحلة التمهيدية أو الدور التمهيدي Prophase :

وتتميز الخلايا التي تدخل هذه المرحلة بمجموعة من المميزات فيها :

1 - ظهور الكروموسومات في النواة وتبدو في هذه المرحلة بأنها رفيعة خيطية ملتفة على بعضها لا تلبث ان تصبح اكثر غلظة وسماكة .

2 - أختفاء النوية .

3 - بداية تحلل غشاء النوة وظهور الكروموسومات مؤلفة من كروماتيدات مزدوجة مرتبطة مع بعضها عن طريق السنتروميتر .

4 - ظهور الاقطاب وخيوط المغزل .

المرحلة الاستوائية او الدور الاستوائي Metaphase :

أهم مميزات الخلايا التي في هذا الدور :

1 - تنتظم الكروموسومات في وسط الخلية بشكل طولي وعمودي على استواء الخلية .

2 - وجود الكروموسومات على هيئة أزواج .

المرحلة الانفصالية او الدور الانفصالي **Anaphase** :

مميـــزاته :

1 - تحرك الكروموسومات بأتجاه المغزل على هيئة مجموعتين .

2 – أرتباط الكروموسومات من مواقع السنتروميتر بخيوط المغزل التي لا تلبث في هذه المرحلة بالتقلص مؤدية الى أنفصال أزواج الكروموسومات .

3 – ينتهي هذا الدور بوصول مجموعتي الكروموسومات الى أقطاب الخلية .

المرحلة النهائية او الدور النهائي Telophase :

مميزاته :

1 – وجود مجموعتان من الكروموسومات في أقطاب الخلية محاطتان بغشاء مؤذنه بظهور النواة مرة أخرى .

2 – بناء الغشاء أو الجدار بين النواتين لفصل محتويات الخلية الام .

3 – بداية أختفاء الكروموسومات حين تظهر عندئذ على هيئة خيطية رفيعة تلتف على بعضها البعض .

4 – ظهور النوية في مرحلة متأخرة منه .

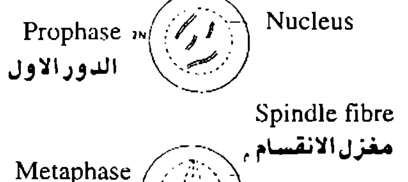
تعتبر عملية الانقسام غير المباشر جزءاً من الدورة الخلوية التي تمر بها الخلايا ويستغرق أنقسام الخلايا بين 1 - 3 ساعات بينما تحتاج هذه الخلايا الى اكثر من اربعة ساعات لتحضير نفسها للدخول فيه .

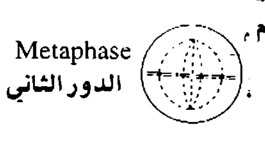
ويلاحظ بأن ما يحصل في هذا الانقسام لا يحقق التصور الذي تم وضعه من خلال تجارب ونتائج مندل حيث أحتفظت كل خلية من الخلايا الناتجة عن هذا الانقسام بنفس عدد الكروموسومات الذي كان موجوداً في الخلية الام . بينما دلت النتائج السابقة على ضرورة أنفصال عوامل الصفات قبل حصول الاخصاب وهذا ما يوفر الدليل المادي والعلمي لوجود نوع أخر من الانقسامات الخلوية الا وهو الانقسام الاختزالي الذي لايمكن مشاهدته الا في الخلايا الجنسية أو في الانسجة الجنسية أو الاعضاء الجنسية .

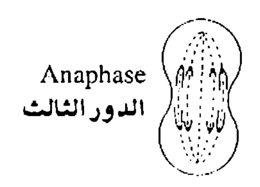
الانقسام الاختزالي Meiosis :

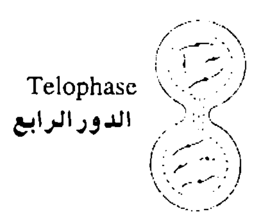
يحصل الانقسام الاختزالي في الخلايا الجنسية أو المولدة للخلايا الجنسية ويؤدي الى تكوين أربعة خلايا جديدة بنصف العدد الاصلي من الكروموسومات .

يتم أختزال أعداد الكروموسومات الى النصف من خلال انقسامين متواليين للنواة يتخللها أنقسام مفرد للكروموسومات وبذلك تتكون أربعة خلايا كل منها بنصف العدد الاصلي من الكروموسومات (شكل 14 - 4)









شكل 14 - 3 : مراحل الانقسام غير المباشر Mitosis في الخلايا .

الانقسام الاختزالي الاول Meiosis I :

ويتم في هذا الانقسام أنفصال الكروموسومات القرينة بعد حصول العبور وتبادل المواد الوراثية فيما بينها .

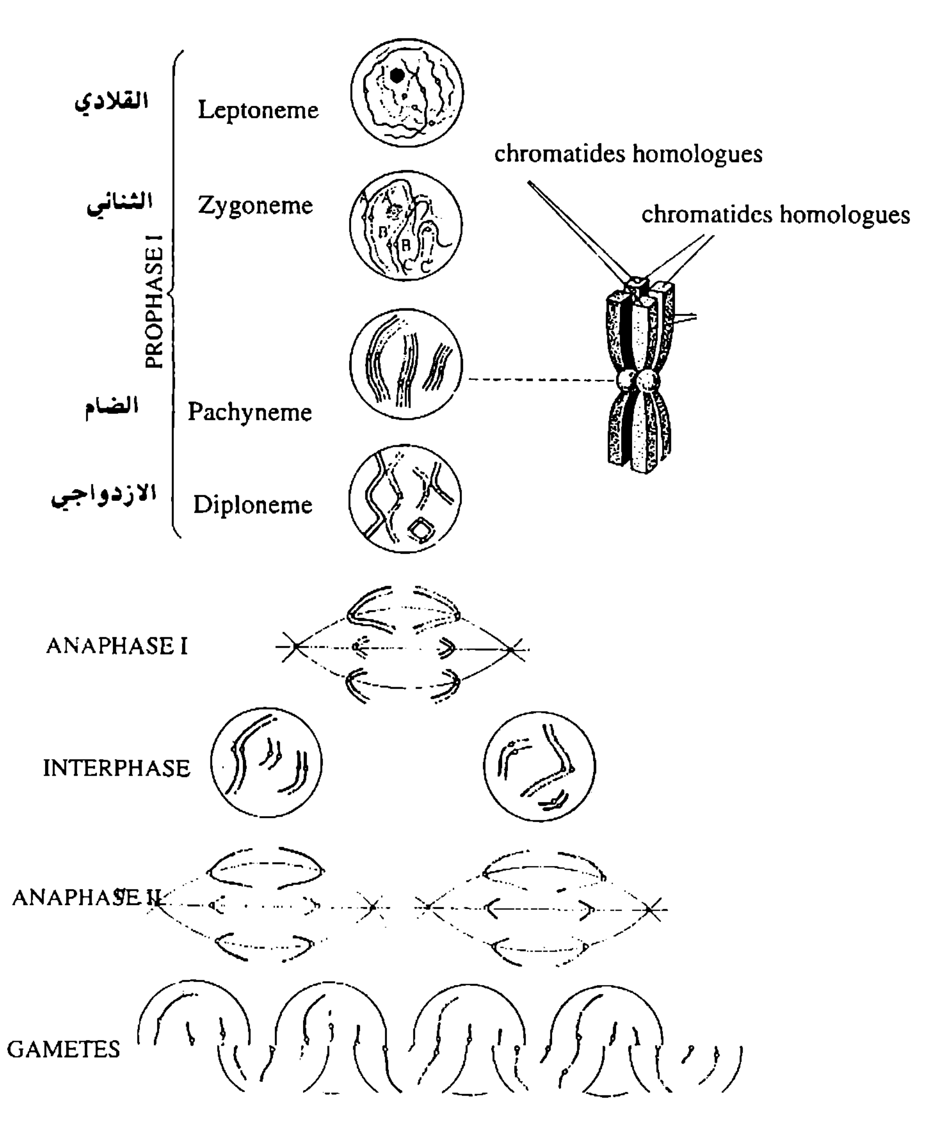
مراحل الانقسام :

الدور التمهيدي الاول Prophase I : ويعتبر هذا الطور أطول مراحل الانقسام الاختزالي وتحصل فيه العديد من المظاهر الانقسامية المتنوعة ولذلك فقد تم تقسيمه الى مراحل ثانوية هي :

الطور القلادي **Leptotene** : وتظهر فيه الكروموسومات طويلة رفيعة ذات مناطق منتفخة بحيث تشبه الكروموسومات في هذا الطور المسبحة . تقصر في نهاية الطور الكروموسومات .

الطور الثنائي **Zygotene** : تزدوج الكروموسومات بسبب تغلظها وظهور الكروماتيدات بشكل واضح .

الطور الضام Pachytene : تنجذب الكروموسومات القرينة الى بعضها وتظهر هذه وكأنها تراكيب رباعية بسبب تميز كروماتيداتها . كما تبدء الكروماتيدات في التراكيب الرباعية بالاقتراب ومساس بعضها .



شكل 14 - 4 : مراحل الانقسام الاختزالي Meiosis في الخلايا الجنسية .

الطور الازدواجي **Diplotene** : يحصل في هذا الطور العبور وظهور مناطق تصالب الكروماتيدات العابرة .

الطور التشتتي **Diakinese** : ينتهي في هذا الطور حدوث العبور وتنفصل الكروميدات المتصالبة وتتغلظ وتقصر وتظهر ألياف المغزل ويختفي الغشاء النووي .

ويعتبر هذا الطور الجزء النهائي للمرحلة التمهيدية لتبدء بعدها مرحلة الطور الاستوائي .

الدور الاستوائي الاول **Metaphase I** : تصطف في هذا الطور الكروموسومات في منتصف أستواء الخلية حيث يرتبط كل كروموسوم بخيط من خيوط المغزل .

الدور الانفصالي الاول **Anaphase I** : تنفصل في هذا الطور الكروموسومات القرينة او المتناظرة بحيث تذهب كل مجموعة الى أحد أقطاب الخلية .

الدور النهائي الاول **Telophase I** : تحاط مجاميع الكروموسومات في هذا الطور بغشاء وتبدء الكروموسومات بالتغلظ والاستطالة وقد تنفصل الخلايا في بعض الكائنات الا انه وبشكل عام فأن الخلايا الناتجة من هذا الانقسام تدخل بعد فترة وجيزة جداً الانقسام الاختزالي الثاني دون المرور في مرحلة راحة أو أنتظار .

الانقسام الاختزالي الثاني Meiosis II :

يؤدي هذا الانقسام الى انشطار كروماتيدات كروموسومات الخلايا الناتجة من الانقسام الاختزالي الاول لانتاج أربعة خلايا بنصف العدد الاصلي من الكروموسومات . يمر هذا الانقسام بعدة مراحل هي :

الدور التمهيدي الثاني **Prophase II** : تصبح كروموسومات هذا الطور قصيرة وسميكة ويستمر هذا الطور لفترة قصيرة جداً .

الدور الاستوائي الثاني **Metaphase II** : وتظهر كروماتيدات كل كروموسوم مرتبطة مع الياف المغزل من منطقة أرتباطها مع بعض وتصطف الكروموسومات في منتصف الخلية أستعداد لانشطار كروماتيدات الكروموسومات .

الدور الانفصالي الثاني **Anaphase II** : تبتعد في هذا الطور الكروماتيد الشقيقة لكل كروموسوم بأتجاه أحد أقطاب الخلية بسبب تقلص الياف المغزل المرتبطة معها .

الدور النهائي الثاني **Telophase II** : تبدأ الكروموسومات (الكروماتيدات) بالالتفاف على بعضها وتبدء بالتحول الى الشكل الخيطي ويبدأ غشاء النواة بالظهور محيطاً كل مجموعة كروموسومية ولا تلبث الخلايا أن تنفصل في نهاية هذا الطور مؤدية الى الحصول على اربعة خلايا من كل خلية شاركت في الانقسام الاختزالي .

الانقسام الاختزالي في الاعضاء الجنسية الحيوانية :

يجري هذا الانقسام في الغدد الجنسية للحيوان أثناء عملية أنتاج الحيوانات المنوية او البويضات . أما في النباتات فيجري هذا الانقسام أثناء عملية أنتاج الابواغ .

الانقسام الاختزالي لانتاج الحيوانات المنوية Spermatogenesis :

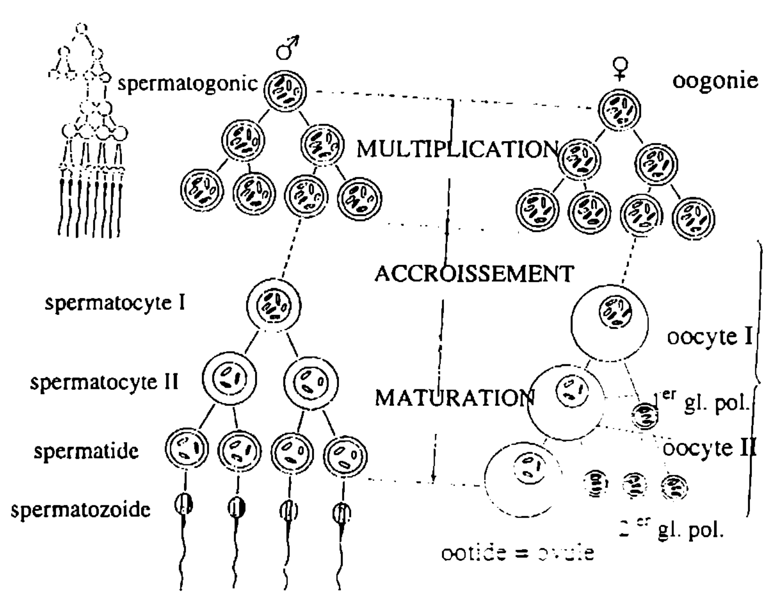
كما سبق الحديث فأن هذا الانقسام يحصل في الغدد الجنسية للحيوانات وبالضبط في الانبيوبات المنوية ، يتألف النسيج الذي يدخل الانقسام الاختزالي مـن 5 - 8 طبقات من الخلايا . الخارجية منها تدعى بالخلايا المنويه الامية والتي تكون ذات عدد كامل من الكروموسومات وتنقسم أنقساماً غير مباشر لانتاج خلايا منوية اولية . تنقسم كل خلية منوية أولية أنقساماً اختزالياً اولياً لانتاج خليتين كل منهما بنصف العدد الاصلي من الكروموسومات تسمى هذه الخلايا بالخلايا المنوية الثانوية . تدخل هذه الخلايا الانقسام الاختزالي الثاني لانتاج أربعة خلايا بنصف العدد الاصلي من الكروموسومات تدعى هذه الخلايا بطلائع المني ولا تلبث ان تمر بمرحلة تحوير تنتهي بعدها كخلايا منوية جنسية (شكل 14 - 5) .

الانقسام الاختزالي لانتاج البويضات Oogenesis :

يحصل هذا الانقسام في الخلايا البيضية الامية في المبيض التي تتميز بكونها

ذات عدد كامل من الكروموسومات وتنقسم أنقساماً غير مباشر لانتاج خلايا بيضية اولية . تدخل هذه الخلايا الانقسام الاختزالي الاول حيث تنفصل الكروموسومات القرينة لانتاج خليتين بنصف العدد الاصلي من الكروموسومات . أحدى هاتين الخليتين تكون كبيرة الحجم لأستقطابها كمية كبيرة من السايتوبلازم تدعى هذه بالخلية البيضية الثانوية فيما تسمى الخلية الصغيرة الحجم بالجسم القطبي الاول والذي يظهر كجسم داكن داخل الخلية البيضية الثانوية . تنقسم الخلايا البيضية الثانوية والاجسام القطبية الاولية انقساماً أختزالياً ثانياً حيث تنتج من كل خلية بيضة ثانوية خلية تدعى أم البيض وجسم قطبي ثانوي بينما يؤدي الانقسام الاختزالي لكل جسم قطبي اولي الى انتاج جسمين قطبيين ثانويين .

وهكذا فأن كل خلية بيضية اولية تؤدي بعد الانقسام الاختزالي الى انتاج خلية أم البيض وثلاثة اجسام قطبية ثانوية (شكل 14 - 5) وتتميز جميعها بأحتوائها على نصف العدد الاصلي من الكروموسومات .



شكل 14 - 5 : عمليتي تكوين خيوانات المنوية والبويضات في الانسجة جنسية .

الانقسام الاختزالي في النباتات :

تعتبر عملية تكوين الخلايا الجنسية (الجاميتات) في النبات اكثر تعقيداً مما هو لدى الحيوانات . فمثلاً تتألف الطحالب الخضراء وكذلك خلاياها الجنسية من نصف العدد الاصلي من الكروموسومات بسبب أن الانقسام الاختزالي يحصل في الانقسام الخلوي الاول والثاني للبيضة المخصبة . ويحصل العكس في بعض الطحالب البنية حيث يتألف جسمها من خلايا تحتوي على العدد الكامل من الكروموسومات بسبب أن الانقسام الاختزالي يحصل قبل تكوين الخلايا الجنسية مباشرة وهو ما يشبه ما يحصل لدى الحيوانات ، وهناك أنواع من الطحالب تعمل على تكوين خلايا لاجنسية (أبواغ) من البيضة المخصبة تعمل على تكوين نباتات ذات أبواغ جنسية .

أما في النباتات الراقية فأننا نجد بأنها تتميز بما يسمى بتبادل الاجيال حيث يتبادل الطور البوغي اللاجنسي والذي ينشأ من الانقسام الاختزالي والذي ينمو لتكوين النبات الذي يعمل بدوره على تكوين الخلايا الجنسية الاحادية المجموعة الكروموسومية والتي تمثل الطور الجنسي (الجاميتي) (حبوب اللقاح والبويضات) وهذه بعد الاخصاب تعمل على تكوين الطور البوغي (النبات) مرة أخرى . وهكذا نجد أن هناك طور بوغي بين كل طورين جاميتيين او جنسيين .

تحتوي حبة اللقاح (الجاميتة الذكرية) الناضجة على ثلاثة أنوية . واحدة غير جنسية ونواتان ذكريتان وعند أختراق حبة اللقاح عبر الاجزاء التناسلية الانثوية (عبر القلم) فأن أحدى النواتين الذكريتيين تتحد مع نواة الخلية البيضية (في المبيض) لتكوين جنين البذرة وتتحد النواة الذكرية الثانية مع نواة الاندوسبيرم لانشاء نسيج الاندوسبيرم الضروري لنمو الجنين (نواتين قطبيتين في الاندوسبيرم) وتسمى عملية الاتحاد الاخيرة بالاخصاب المزدوج .

ويعتبر نبات الذرة من أفضل الامثلة التي تم دراسة الانقسام الاختزالي فيها . يحمل نبات الذرة نوعان من الازهار هما الازهار الذكرية والازهار

الانثوية (نبات وحيد المسكن) .

تنقسم الخلايا داخل الاسدية أختزالياً لانتاج أربعة حبوب لقاح مفردة المجموعة الكروموسومية من كل خلية تدخل هذا الانقسام . وتنقسم نواة كل حبة لقاح أنقساماً غير مباشر لانتاج نواة لاجنسية (خضرية) ونواة مذكرة تناسلية لا تلبث هذه أن تنقسم الى نواتين تناسليتين .

أما في المبيض فتتحول خلية واحدة من خلايا المبيض الى خلية أم البيض التي تدخل الانقسام الاختزالي لانتاج أربعة خلايا تضمحل ثلاثة منها لتبقى خلية واحده تدخل ثلاثة أنقسامات مباشرة لانتاج ثمانية نوى أحادية المجموعة الكروموسومية هي خلية البيضة وخليتان مساعدتان ونواتان قطبية وثلاثة خلايا سمتية .

وعند حصول الاخصاب تخترق الانوية الثلاثة لحبة اللقاح قلم المبيض حيث تلتحم أحدى الانوية التناسلية الذكرية مع البيضة لانتاج البيضة المخصبة الثنائية المجموعة الكروموسومية بينما تخصب النواة التناسلية الثانية نواتي الاندوسبيرم القطبية لتكوين الاندوسبيرم (شكل 14 - 6) .

شكل 14 - 6 : الانقسامات الاختزالية في النباتات الراقية وعملية الاخصاب لتكوين الجنين (الطور البوغي) والاندوسبيرم .

المصـــادر العــربية

1 - الفيصل ، عبد الحسين مويت 1998 . الوراثة الجزيئية . منشورات جامعة التحدي - سرت - ليبيا .

2 - الفيصل ، عبد الحسين مويت 1999 . الوراثة العامة . منشورات الدار الاهلية - عمان - الاردن .

3 - الفيصل ، عبد الحسين مويت 1999 ، الهندسة الوراثية . منشورات دار الشروق - عمان - الاردن .

4 - الكبيسي ، خالد 1998 ، اساسيات بايولوجيا الخلية . منشورات جامعة تعز - اليمن .

5 - ثريد كولد ، ل .ت . 1982 التركيب الدقيق للخلية الحيوانية . ترجمة د . أنور يوشوع يعقوب وجماعته . منشورات جامعة الموصل - العراق .

6 - عثمان ، أحمد . 1997 الوراثة . منشورات جامعة دمشق - دمشق - سوريا .

7 - فولار ، هاري وجماعته 1985 . عالم النبات . ترجمة د . قيصر نجيب وجماعته . منشورات جامعة الموصل - العراق .

المصادر الاجنبية

1 - Alberts, B., Bary, D. et al 1983. Molecular Biology of the cell. Garland publishing, Inc. USA.

2 - Ashwell, M. and work, T.W. 1970. The biogenesis of mitochondria. Ann. Rev. Biochem. 39:251- 290.

3 - Avers, C.J. 1986. Molecular cell biology. Addison - wesly publishing Co. USA.

4 - Baskin, T.I. and Cande, W.Z. 1990. The Structure and function of the mitotic spindle in flowering plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. 41:277 - 315.

5 - Bucci, M. and Wente, S. 1997. In Vitro dynamics of the nuclear pore Complexes in yeast. J. Cell Biol. 136:1185 - 1200.

6 - Carr, K-E and Toner, P.G. 1982. Cell Structure, An introduction to biomedical electron microscopy. Longman Group Limt. U.K

7 - Chan, A. and Cande, W.Z. 1998. Mize Meiotic spindles assemble around chromatin and donot require paired Chromosomes. J. Cell Science 111: 3507 - 3515.

8 - Cohen, N. 1991. Cell Structure, function and metabolism.

Hodder and Stoughton pub. The Open university. U.K.

9 - Daive. R.K. 1998. Meiotic chromsome Organization and Segregation in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49:371 - 395.

10- Darvil, A.G., Albersheim, P. et al. 1985. Structure and function of plant cell well polysaccharides. J. of Cell Science (The sixth John Innes Symposium).

11 - De Robertis, E.D.P. and De Robertis, E.M.F. 1987. Cell and Molecular Biology. Lea and Febiger, USA.

12 - Ellenberg. J., Siggia, E.D., Moreira , J.E. et. al. 1997. Nuclear membrane dynamics and reassembly in living Cells. Targeting on an inner nuclear membrane protein in interphase and miosis. J. of Cell. Biol. 138 (6) : 1193 - 1206.

13 - Freifelder, D. 1983. Molecular Biology, A comperhesive introduction to prokaryotes and Eukaryotes. Jones and Bartlett Pub. Inc. USA.

14 - Gao, F.B and Raff, M. 1997. Cell size control and a cell - intrinsic maturation program in proliferating Oligodendrocyte precursor cell.

J. of Cell Biol. :138 (6): 1367 - 1377.

15 - Gaglio, T., Dionne. M.A. And Compton, D.A. 1997. Mitotic Spindle poles are organized by Structural and motor proteins in addition to centrosomes. J. Cell Biol. 138 (5): 1055 - 1066.

16 - Hopkins, C.R. 1978. Structure and function of cells, W.B. Saunders Co. Ltd. U.K.

17 - Porter, K.R. and Machado, R.D. 1960. Studies on the endoplasmic reticulum. J. Biol. Phys. Biochem. Cytol. 7: 167 - 180.

18 - Roberts, K., Gr, Ef, C. etal 1985. Cell well glycoproteins: Structure

and function. J. of Cell Science (The sixth John Innes Sympo sium) 105 - 127.

19 - Salmon, E.D. 1989 Microtubule dynamics and chromosomes movwment. In Mitosis: Molecules and Mechanisms. Ed. J.S. Hyams & B.R.Brinkley, pp 119 - 181. Academic press, Newyork.

20 - Sato, H., Nagai, T. et al 1997. Microtubule Stabilization in Pressure overload cardiac hyperophy.

J. of cell Biol. 139 (4) : 963 - 974.

21 - Sciaky, N., Presley, J. et al. 1997. Golgi tubule traffic and the effects of brefeldin A Visualized in living Cells. J. of Cell Bio L. 139 (50): 1137 - 1156.

22 - Shaw, S.L., Yeh, E. et al 1997. Astral microtubule dynamics in yeast : A microtubule based searching mechanism for spindle orientation and nuclear migration into the bud. J. of Cell Biol. 139 (4): 985 - 994.

23 - Solomon, E. R., Bero, L.R. et al. 1985. Biology. Sunders College publishing - USA.

24 - Stryer, L. 1981. Biochemistry. Newyork. W.H. Freeman & Company.

25 - Szalai, V.A. and Gary W.B. 1998. How plants produce Dioxygen. Am. Sc. 86 (6): 542 - 551.

26 - Thorpe, N.O. 1978. cell Biology. John Wiely & Sons Inc. Canada.

27 - Tian, G., Lewis, S.A. et al 1997. Tubulin Subunits exist in an

activated Conformational State generated and maintained by Protein Cofactors.

J. of Cell Biol 138 (4): 821 - 832.

28 - Voet, D. and Voet, J.G 1990. Biochemistry. John Wiley and Sons, Chichester. U.K

29 - Waterham, H.R., Russell, K,A., Vries, Y. de. & Gregg. J.M. 1997. Peroxisomal targeting, import and assembly of alcohol oxidase. J. of Cell Biol. 136 (6) : 1419 - 1432.

30 - Yang, S. Ayscough, K.R., and Drubin, D. G. 1997. A role for the actin cytoskeleton of S. cerevi siae in biplar bud - site selection. J. of Cell Biology 136 (1) : 111 - 124.